

CAR-NK 细胞临床应用进展

陈凤群 覃金洲 刘韬

232001 安徽淮南, 安徽理工大学医学院(陈凤群、刘韬); 518001 广东深圳, 深圳大学第三附属医院(深圳市罗湖区人民医院)肿瘤免疫科(覃金洲、刘韬)

通信作者: 刘韬, Email: 13682481027@163.com

基金项目: 深圳市科技计划项目(JCYJ20170412155231633、JCYJ20170307171034705)

DOI: 10.3969/j.issn.1002-1256.2025.24.013

【摘要】 CAR-NK 细胞是经基因工程改造的免疫细胞, 融合了嵌合抗原受体(CAR)技术与自然杀伤(NK)细胞特性, 从而显著提升对肿瘤的特异性识别和杀伤能力。CAR-NK 细胞凭借其多方面的显著优势, 逐渐成为未来肿瘤免疫治疗的关键方向。目前, CAR-NK 细胞临床应用仍处于起步阶段, 相关文献报道较为有限。在此背景下, 本综述系统梳理 CAR-NK 细胞的临床试验进展, 探讨其在临床应用中的独特优势与面临的挑战, 并展望其未来发展方向, 以期为该领域的研究与应用提供参考与启示。

【关键词】 CAR-NK 细胞; 肿瘤治疗; 临床应用; 进展

Progress of clinical application of CAR-NK Cells Chen Fengqun, Qin Jinzhou, Liu Tao

School of Medicine, Anhui University of Science and Technology, Huainan, Anhui 232001, China (Chen Fengqun, Liu Tao); Department of Tumor Immunology, Third Affiliated Hospital of Shenzhen University (People's Hospital of Luohu District in Shenzhen City), Shenzhen, Guangdong 518001, China (Qin Jinzhou, Liu Tao)

Corresponding author: Liu Tao, Email: 13682481027@163.com

【Abstract】 CAR-NK cells are genetically engineered immune cells that combine chimeric antigen receptor (CAR) technology with natural killer (NK) cell characteristics, thereby significantly improving the specific recognition and killing ability of tumors. With their significant advantages in many aspects, CAR-NK cells have gradually become the key direction of tumor immunotherapy in the future. At present, the clinical application of CAR-NK cells is still in its infancy, and the relevant literature reports are limited. In this context, this review systematically reviews the clinical trial progress of CAR-NK cells, discusses their unique advantages and challenges in clinical application, and looks forward to their future development direction, in order to provide reference and enlightenment for the research and application in this field.

【Key words】 CAR-NK cells; Tumor therapy; Clinical application; Progress

近年来, 免疫治疗已成为肿瘤治疗领域一大亮点。免疫治疗通过激活患者自身免疫系统对抗肿瘤细胞^[1,2]。CAR-NK(chimeric antigen receptor natural killer)细胞疗法是近年来免疫细胞治疗领域的重要进展^[3]。经基因工程改造的NK细胞, 可预先制备和储存, 实现“现货型”(off-the-shelf)产品的开发, 这能确保产品质量一致性和可重复性^[4]。CAR-NK细胞凭借快速可用、成本低、效益高和易于标准化等显著优势, 成为当前免疫细胞治疗领域备受瞩目的研究热点之一。本文旨在综述CAR-NK细胞临床应用的研究进展、应用现状以及未来发展方向。

一、CAR-NK 细胞概述

CAR-NK 细胞是一种经过基因工程改造的自然杀伤细胞, 通过嵌合抗原受体(CAR)来增强其对肿瘤细胞的靶向性和杀伤能力。CAR-NK 细胞的来源多样, 包括外周血NK细胞(PB-NK)、脐带血NK细

胞(UCB-NK)、诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)来源的NK细胞、NK细胞系^[5]。CAR-NK细胞的制备过程通常涉及从外周血、脐带血或诱导多能干细胞(iPSC)中获取NK细胞, 随后通过与外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)共培养或添加细胞因子(如IL-2)来激活这些NK细胞。接着, 利用病毒载体或非病毒方法将CAR基因导入NK细胞, 进行基因工程改造。改造后的NK细胞在特定培养基中进行体外扩增。最后, 通过细胞计数、无菌检测、内毒素检测、CAR拷贝数检测以及杀伤活性检测等一系列质量控制步骤, 确保细胞产品的安全性和有效性^[6,7]。经过以上程序, CAR-NK细胞具备了精准靶向肿瘤细胞的能力。该CAR-NK细胞仍需经大量临床前研究和临床试验验证其安全性和有效性。未来, 随着技术的不断进步和临床研究的深入, CAR-NK细胞

有望在癌症治疗领域发挥更大的作用,改善患者的预后和生活质量。

二、CAR-NK 细胞的临床应用

1. 血液系统肿瘤:目前,CAR-NK 细胞在治疗血液系统肿瘤中展现良好治疗效果^[8]。根据 ClinicalTrials.gov 网站信息,多项 CAR-NK 细胞治疗血液肿瘤的临床试验正在进行中(见表 1)。Huang 等^[3]开展了一项靶向 CD33 的 CAR-NK 细胞治疗复发/难治性急性髓系白血病 (relapsed/refractory acute myeloid leukemia, R/R AML) 患者的临床试验。结果显示,在治疗 28 d 后,10 例患者中有 6 例达到微小残留病 (minimal residual disease, MRD) 阴性完全缓解。此外,仅 1 例患者出现 2 级 CRS,主要表现为持续发热,但骨髓抑制在 1 个月内得到缓解。Sauter 等^[9]也开展了一项 I 期临床研究,旨在评估 NKX101 (可表达 NKG2D 配体导向的 CAR-NK 细胞) 联合阿糖胞苷 (Ara-C) 和氟达拉滨 (Fludarabine) 治疗 R/R AML 的疗效与安全性。结果显示,3 例患者达到完全缓解,且未发现 MRD。另一项 I/II 期临床试验纳入了 37 例 B 细胞恶性肿瘤患者,以评估靶向 CD19 的 CAR-NK 细胞的安全性和有效性^[10]。在安全性方面,该试验表现为仅 1 例患者出现 1 级细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS)。在疗效方面,第 30 天和第 100 天的总体反应率均为 48.6%;1 年总生存率为 68%,无进展生存率为 32%。此外,该试验还发现脐带血单位 (cord blood unit, CBU) 的选择对治疗效果有显著影响。Fumarola 等^[11]发现 CBU 的质量与 CD34⁺ 细胞和 CFU-GM 细胞数量、HLA 匹配度、孕周、婴儿性别及出生体重等因素密切相关。这些结果凸显了供体选择标准的关键作用,为 CAR-NK 细胞疗法的成功应用提供了极具价值的指导。

总体而言,CAR-NK 细胞疗法在血液肿瘤的临床应用中已取得令人瞩目的进展。为了更全面地评估其疗效与安全性,仍需在更大样本量的患者中开展更长期的随访研究,以确保这一创新疗法能够持续优化并广泛应用于临床实践。

2. 实体肿瘤:目前,尽管 CAR-NK 细胞疗法在实体瘤治疗领域的研究仍处于早期阶段,相关个案报道和临床试验结果却不断涌现(见表 2)。Xiao 等^[12]开展了一项研究,探讨靶向 NKG2D 配体的 CAR-NK 细胞治疗难治性转移性结直肠癌的安全性和疗效。经多轮腹腔内 CAR-NK 细胞输注治疗后,3 例患者腹膜靶病灶达到稳定状态,并且在治疗过程中未观察到严重的免疫效应细胞相关神经毒性综合征 (immune effector cell - associated neurotoxicity syndrome, ICANS),显示出良好的耐受性。此外,

Burger 等^[13]开展了一项多中心 I 期临床试验,旨在探索 HER2 靶向的 CAR-NK 细胞疗法在复发性 HER2 阳性胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) 患者中的应用。结果表明,重复进行颅内注射 CAR-NK 细胞是可行且安全的,并显著诱导局部免疫反应,脑脊液中促炎因子和细胞计数显著增加。

尽管 CAR-NK 细胞治疗在某些情况下展现出良好的安全性和潜在的疗效,但在治疗过程中仍存在风险。有个案报告称,1 例 69 岁女性非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者,伴颅内转移,经 3 个周期的 CCCR-NK92 细胞静脉注射治疗后,肿瘤负荷显著降低,但出现了较为严重的 CRS。研究者推测这可能与 CCCR 的 PD-1-NKG2D-41BB 过度激活有关,进而导致细胞因子过度产生^[14]。另一份病例报告中,1 例肺癌患者经手术治疗后接受 CAR-NK 细胞治疗,但在第 4 次治疗后引起 CRS 并猝死^[15]。瑞金医院也报道了 1 例特异性靶向 Robo1 的 CAR-NK 细胞治疗 46 岁男性肝转移胰腺导管腺癌患者的临床案例。该患者在接受 CAR-NK 细胞治疗后,病情在 5 个月内得到有效控制。然而,在 CAR-NK 细胞治疗结束后的 2 个月,患者出现严重并发症,因多器官衰竭不幸去世,总生存时间为 8 个月^[16]。这表明 CAR-NK 细胞疗法的安全性仍需进一步验证,其并非绝对安全。

为了更全面地评估其安全性和有效性,未来需要在更大样本量的患者中开展研究。在此过程中,可能需要根据疾病的严重程度、患者的耐受能力以及其他个体化因素,灵活调整 CAR-NK 细胞的剂量和疗程,以确保治疗的安全性和有效性,为患者的生命健康提供更坚实的保障。

3. 其他疾病:系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种复杂的自身免疫性疾病。该疾病的传统治疗药物往往只能缓解症状,长期服用会出现严重毒副作用^[17]。CAR-T 细胞疗法在 SLE 治疗中虽然展现出显著的潜力,但其临床应用的安全性仍面临诸多挑战,如可能会引发较为 CRS,甚至可能导致 ICANS 等不良事件^[18]。长海医院团队开展针对 CD19 靶向 CAR-NK 细胞治疗 SLE 患者的临床试验。该研究共纳入 20 例活动性、重度且难治性的 SLE 患者。在治疗过程中,仅 2 例患者出现短暂的 1 级 CRS,表现为短暂发热。在 8 例随访时间超过 6 个月的患者中,50.0% (4/8) 达到 SLE 定义缓解状态,75.0% (6/8) 达到 SLE 低疾病活动状态^[19]。即便 CAR-NK 细胞疗法在自身免疫性疾病中的临床试验较少,但现有的报道显示其具有较高的安全性。关于 CAR-NK 细胞治疗其他疾病的临床应用,见表 3。

表 1 CAR-NK 在血液系统肿瘤的临床试验汇总

编号	状态	靶标	适应症	临床阶段	联合治疗
NCT05472558	未知	CD19	NHL	I 期	/
NCT05574608	招募中	CD123	R/R AML	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT05645601	未知	CD19	R/R B 细胞血液系统恶性肿瘤	I 期	Flu、Cy
NCT05008575	未知	CD33	白血病	I 期	Flu、Cy
NCT03940833	未知	BCMA	R/R MM	I/II 期	/
NCT05842707	招募中	CD19/CD70	R/R NHL	I/II 期	/
NCT05654038	未知	CD19	B 细胞淋巴瘤/白血病/淋巴瘤	I/II 期	HSCT
NCT03056339	完成	CD19	B 淋巴恶性肿瘤	I/II 期	Flu、Cy
NCT04796688	未知	CD19	R/R 血液系统恶性肿瘤	I 期	Flu、Cy
NCT05665075	招募中	CD33	R/R AML	I 期	Flu + Cy + Ara-C + VP-16
NCT05379647	未知	CD19	B 细胞恶性肿瘤	I 期	Flu + Cy + 利妥昔单抗 + VP-16
NCT05092451	招募中	CD70	B 细胞淋巴瘤/MDS/AML	I/II 期	Flu、Cy
NCT05110742	招募中	CD5	R/R 血液恶性肿瘤	I/II 期	Flu、Cy
NCT02742727	未知	CD7	白血病和淋巴瘤	I/II 期	/
NCT05182073	不招募	BCMA	MM	I 期	Flu + Cy + 达雷妥尤单抗 + 苯达莫司汀
NCT05563545	完成	CD19	R/R ALL	I 期	Flu、Cy
NCT06690827	招募中	CD123	R/R AML/母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤	I 期	/
NCT05247957	终止	NKG2D	R/R AML	I 期	/
NCT06696846	尚未招募	CD70	AML/T 细胞淋巴瘤	I 期	/
NCT05652530	未知	BCMA	R/R MM	早期阶段 1	淋巴细胞清除化疗
NCT06045091	招募中	BCMA	R/R MM/浆细胞白血病	早期阶段 1	淋巴细胞清除化疗
NCT06006403	招募中	CD123	R/R AML/母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤	I/II 期	Flu、Cy
NCT06307054	招募中	CLL-1	R/R AML	I 期	/
NCT05734898	招募中	NKG2D	R/R AML	/	淋巴细胞清除化疗
NCT05215015	未知	CD33/CLL1	AML	早期阶段 1	/
NCT05410041	未知	CD19	R/R B 细胞恶性肿瘤	I 期	/
NCT04796675	未知	CD19	B 淋巴恶性肿瘤	I 期	Flu、Cy
NCT05673447	未知	CD19	R/R 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT04639739	未知	CD19	R/R NHL	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT05739227	招募中	CD19	R/R B 细胞血液系统恶性肿瘤	早期阶段 1	Flu + Cy + 依托泊苷
NCT06707259	招募中	CD19	R/R NHL	I 期	/
NCT06242249	尚未招募	BCMA	R/R MM	I/II 期	Flu、Cy
NCT06631040	尚未招募	CD19	复发或耐药 B-ALL	I/II 期	Flu、Cy
NCT05008536	未知	BCMA	R/R MM	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06464861	招募中	CD19	R/R B 细胞淋巴瘤	I 期	CAR-T 序贯治疗
NCT06596057	不招募	CD19	R/R B 细胞淋巴瘤/ALL	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06827782	未知	CD19	R/R 中枢神经系统淋巴瘤	I 期	ommayya 胶囊
NCT05570188	未知	CD19	B 细胞血液系统恶性肿瘤	I/II 期	HSCT
NCT03692767	未知	CD22	R/R B 细胞淋巴瘤	早期阶段 1	/
NCT03690310	未知	CD19	R/R B 细胞淋巴瘤	早期阶段 1	/
NCT05987696	尚未招募	CD33/CLL1	R/R AML	I 期	Flu + Cy + Ara-C
NCT06201247	招募中	CD123	R/R AML	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06594211	尚未招募	BCMA/GPRC5D	R/R MM	/	/
NCT02944162	未知	CD33	R/R AML	I/II 期	/
NCT06027853	招募中	CLL1	R/R AML	I 期	Flu + Cy + VP-16
NCT03824964	未知	CD19/CD22	R/R B 细胞淋巴瘤	早期阶段 1	/
NCT06379451	尚未招募	NKG2D	R/R MM	早期阶段 1	/
NCT05654038	未知	CD19	B 细胞血液系统恶性肿瘤	I/II 期	HSCT
NCT06367673	招募中	CLL1/CD33	AML	I 期	/
NCT05667155	招募中	CD19/CD70	R/R NHL	I 期	/
NCT02892695	未知	CD19	白血病和淋巴瘤	I/II 期	HSCT

续表 1 CAR-NK 在血液系统肿瘤的临床试验汇总

编号	状态	靶标	适应症	临床阶段	联合治疗
NCT04623944	不招募	NKG2D	成人 AML/MDS	I 期	Flu+Cy+Ara-C+地西他滨
NCT03579927	未知	CD19 的	B 细胞淋巴瘤	I / II 期	HSCT+卡莫司汀+ Ara-C +依托泊苷+非格司亭+美 法仑+利妥昔单抗
NCT05020678	不招募	CD19	B 细胞恶性肿瘤	I 期	Flu + Cy + 利妥昔单抗
NCT06325748	招募中	CD33/FLT3	AML/MDS	I 期	Flu、Ara-C
NCT05020015	不招募	CD19	R/R NHL	II 期	Flu、Cy
NCT06206902	招募中	CD19	R/R NHL	I 期	Flu、Cy
NCT05601466	终止	CD33	AML	I 期	Flu+Cy+Ara-C+VP-16
NCT06699771	尚未招募	CD5	R/R NK 和 T 细胞恶性肿瘤	I 期	Flu、Cy
NCT06334991	招募中	CD19	R/R NHL	I 期	利妥昔单抗
NCT05618925	招募中	CD19	R/R NHL	I 期	Flu+Cy+N-80 ^{3a} +利妥昔单 抗
NCT05336409	招募中	CD19	B 细胞恶性肿瘤	I 期	IL-2、淋巴细胞清除化疗
NCT04245722	终止	CD19	B 细胞淋巴瘤	I 期	Flu+Cy+利妥昔单抗+奥比 妥珠单抗+苯达莫司汀

表 2 CAR-NK 在实体肿瘤的临床试验汇总

编号	状态	靶标	适应症	临床阶段	联合治疗
NCT05410717	招募中	Claudin6/ GPC3/间 皮素/AXL	晚期卵巢癌	I 期	IL7/CCL19 分泌型 CAR-NK 和或 PD-1/PD-L1/CTLA4 分泌 CAR-NK 和或大麻二 酚 (CBD) 和或烟酰胺腺嘌 呤二核苷酸 (NAD)
NCT05213195	招募中	NKG2D	难治性转移性结肠癌	I 期	/
NCT05528341	招募中	NKG2D	复发难治性实体瘤	I 期	/
NCT05507593	未知	DLL3	复发难治性广泛小细胞肺癌	I 期	/
NCT03415100	未知	NKG2D	实体瘤	I 期	IL-2
NCT03940820	未知	ROBO1	实体瘤	I / II 期	/
NCT04847466	招募中	PD-L1	复发转移性胃癌/头颈癌	II 期	帕博利珠单抗+N-803
NCT03941457	未知	ROBO1	胰腺癌	I / II 期	/
NCT05703854	招募中	CD70	晚期肾细胞癌/间皮瘤/骨肉瘤	I / II 期	Flu、Cy
NCT02839954	未知	MUC1	复发难治性实体瘤	I / II 期	/
NCT06478459	招募中	NKG2D	晚期胰腺癌	早期阶段 1	/
NCT05776355	招募中	NKG2D	卵巢癌	/	淋巴细胞清除化疗
NCT06454890	尚未招募	Trop2	复发难治性非小细胞肺癌	I / II 期	/
NCT05194709	未知	5T4	晚期实体瘤	早期阶段 1	/
NCT06503497	招募中	NKG2D	胰腺癌	早期阶段 1	化疗
NCT05845502	终止	GPC3	晚期肝细胞癌	/	/
NCT05686720	未知	间皮素	晚期三阴性乳腺癌	早期阶段 1	/
NCT06464965	招募中	Claudin18.2	胃癌和胰腺癌	I 期	/
NCT05856643	招募中	间皮素	卵巢上皮癌	早期阶段 1	/
NCT06066424	招募中	TROP2	晚期实体瘤	I 期	Flu + Cy + Rimiducid
NCT05922930	招募中	TROP2	耐药卵巢癌/中肾样腺癌/胰 腺癌	I / II 期	Flu、Cy
NCT05248048	未知	NKG2D	难治性转移性结肠癌	早期阶段 1	/
NCT06358430	招募中	TROP2	结肠癌	I 期	Flu + Cy + 西妥昔单抗 + Rimiducid
NCT05137275	未知	5T4	局部晚期或转移性实体瘤	早期阶段 1	/
NCT03692637	未知	间皮素	上皮性卵巢癌	早期阶段 1	/
NCT03692663	未知	PSMA	转移性去势抵抗性前列腺癌	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06342986	招募中	MICA/B	复发性卵巢癌/输卵管癌/原 发性腹膜癌	I 期	Flu、Cy

表 3 CAR-NK 在其他疾病的临床试验汇总

编号	状态	靶标	适应症	临床阶段	联合用药
NCT06464679	招募中	CD19	复发难治性自身免疫性疾病	I 期	Flu、Cy
NCT04324996	未知	NKG2D/ACE2	COVID-19	I/II 期	/
NCT06613490	尚未招募	CD19	难治性抗合成酶抗体综合征/类风湿性关节炎	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06010472	招募中	CD19	中度至重度难治性 SLE	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06421701	招募中	CD19	难治性/复发性 SLE	I 期	Flu、Cy
NCT06792799	招募中	CD19/BCMA	B 细胞介导的自身免疫性疾病	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06318533	招募中	CD19	复发难治性 B 细胞相关自身免疫性疾病	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06614270	招募中	CD19	难治性复发性自身免疫性疾病	/	/
NCT06469190	招募中	CD19	复发难治性免疫性肾病	早期阶段 1	Flu、Cy
NCT06557265	招募中	CD19	成人自身免疫性疾病	I 期	Cy
NCT06733935	招募中	CD19	系统性硬化症/特发性炎症性肌病/抗中性粒细胞胞浆抗体相关血管炎	I 期	Cy
NCT06208280	招募中	CD19	中度至重度活动性 SLE/复发或难治性抗中性粒细胞胞浆抗体相关血管炎/难治性特发性炎症性疾病和复发/难治性活动性弥漫性皮肤系统性硬化症	I 期	Flu、Cy
NCT06377228	尚未招募	CD19	难治性狼疮性肾炎	I 期	Flu、Cy
NCT06468683	尚未招募	CD19	中度至重度难治性 SLE	I 期	Flu、Cy
NCT06255028	招募中	CD19	难治性 B 细胞介导的自身免疫性疾病	I 期	IL-2+淋巴细胞清除化疗
NCT06337474	尚未招募	CD19	复发难治性免疫性血小板减少症	早期阶段 1	Flu、Cy

注:Flu 为氟尿嘧啶;Cy 为环磷酰胺;a:N-803 为 IL-15 超级激动剂;表格数据均来源于美国 clinical trial 网站数据库。

三、CAR-NK 细胞临床应用的优势与挑战

1. CAR-NK 细胞临床应用优势:CAR-NK 细胞疗法作为一种新兴的免疫治疗方法,展现出多方面的临床应用优势,使其在细胞免疫疗法领域具有广阔的发展前景。(1)更高的安全性:CAR-NK 在临床应用中显示出更高的安全性,在 CRS、ICANS 和移植物抗宿主病(Graft-Versus-Host Disease, GVHD)方面的风险显著降低^[8]。该差异可能源于 CAR-NK 与 CAR-T 细胞在细胞因子分泌谱上的本质区别。CAR-NK 细胞主要分泌抗炎细胞因子如 IL-10,而 CAR-T 细胞倾向于分泌促炎因子如 IL-6^[20]。此外,NK 细胞寿命较短,体内扩增能力有限,减少细胞因子过度积累,有效降低 CRS 和 ICANS 风险^[21]。(2)多机制抗肿瘤能力:CAR-NK 细胞拥有多种机制杀伤肿瘤。一方面,NK 细胞具有固有免疫属性,能有效识别并清除肿瘤细胞^[22];另一方面,CAR 能介导抗原特异性识别并杀伤肿瘤细胞。肿瘤细胞通过下调 MHC-I 类分子对 T 细胞进行免疫逃逸^[23]。而 CAR-NK 细胞能识别并杀伤 MHC-I 类分子下调的肿瘤细胞,有效克服肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME),为实体瘤治疗带来新策略

和希望。(3)通用性与治疗便利性:通用性 CAR-T 细胞通过敲除免疫排斥相关基因,如 T 细胞受体 α 链、HLA 以及 $\beta 2$ -微球蛋白等,降低 GVHD 风险,实现“现货型”目标^[24]。但 GVHD 相关基因数量众多,完全敲除相关基因,彻底消除 GVHD 风险,几乎是不可能的。与 CAR-T 细胞相比,CAR-NK 细胞无需 HLA 匹配,实现“现货型”生产,大幅降低治疗成本并提高治疗可及性^[25]。这不仅增强 CAR-NK 细胞在临床应用安全性,还极大地提升治疗便利性,使其有望成为未来细胞免疫疗法的重要发展方向。

2. CAR-NK 细胞临床应用的挑战:(1)转染效率和细胞存活率低:CAR-NK 细胞在慢病毒载体或非病毒载体转染中不如 CAR-T 细胞。CAR-NK 细胞病毒载体转染效率通常为 15%~50%,远低于 CAR-T 细胞的 70%~90%。尽管采用非病毒转染方法(如电穿孔)可使 CAR-NK 细胞转染效率达到 90%,但细胞存活率显著降低,通常仅有 2%~10%^[26]。NK 细胞对非病毒转染方法适应性较低,对物理和化学损伤更为敏感,这可能与 NK 细胞膜电荷和细胞质特性有关^[27]。(2)TME 的免疫抑制和物理屏障:TME 是一个高度复杂的微环境网络。它不仅高表达

免疫检查点分子,存在大量免疫抑制细胞,还呈现出缺氧、酸性以及坚固的物理屏障等特点。TME 中高表达的免疫抑制分子(如 PD-L1、Galectin-9)与 NK 细胞上的抑制性受体(如 PD-1、TIM-3)结合,抑制 NK 细胞的功能^[28]。有研究发现,多种肿瘤临床样本中的 NK 细胞的 PD-1 和 TIM-3 表达上升^[29-31]。另外,TME 中存在调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)、骨髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)等免疫抑制细胞,这些细胞通过分泌免疫抑制分子(如 IL-10、TGF- β)抑制 NK 细胞的活性^[32,33]。肿瘤的快速生长导致肿瘤内部氧气供应不足。在缺氧条件下,HIF-1 α 与 HIF-1 β 结合形成 HIF-1 复合物,激活下游多种免疫抑制分子基因的表达,如 TGF- β 、腺苷、吲哚胺 2,3-双加氧酶(IDO)等^[34]。HIF-1 α 还会通过代谢途径促进腺苷生成,阻碍 NK 细胞的归巢和成熟,进一步削弱免疫细胞在 TME 中的抗肿瘤功能^[35]。另外,肿瘤细胞高度依赖糖酵解,即使在有氧条件下也会进行糖酵解,产生大量乳酸等酸性代谢产物^[36]。这些缺氧和酸性环境易使 NK 等免疫细胞陷入功能耗竭状态^[37]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)能降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM),从而促进免疫细胞的浸润。有研究发现,卵巢癌的 MMP-2 和 MMP-9 表达不足,导致 ECM 过于致密^[38]。这限制 CAR-NK 细胞的进入,会显著影响 NK 细胞在肿瘤组织中的浸润。另外,TME 中的血管结构通常异常,这些异常表现为血管通透性增加和血管内皮细胞紧密连接减弱等特征^[39]。这种异常的血管结构导致了肿瘤组织内的高通透性和滞留效应,使得大分子药物和纳米药物能够在肿瘤组织中选择性地外渗和保留^[40]。然而,这种异常的血管结构也带来了血流不畅、高间质液压力和固体压力等问题^[41]。这些因素共同构成了肿瘤组织的生物屏障,阻碍了药物向肿瘤组织深处的渗透,还导致肿瘤内部的缺氧环境,进一步抑制了 NK 细胞的功能^[42]。(3) 体内续存能力弱: NK 细胞天然短寿命特性在安全性方面具有显著优势,但这也导致 CAR-NK 细胞体内续存能力较低,通常仅能维持 1~2 周^[43]。在缺乏外源性细胞因子支持情况下,极大限制 CAR-NK 细胞抗肿瘤效果^[20]。

四、CAR-NK 细胞临床应用的未来发展方向

未来聚焦于多个关键领域,包括细胞制备技术、靶点设计方案、基因工程技术、联合治疗策略、临床

试验设计以及监管框架等。这些突破有望进一步推动 CAR-NK 细胞疗法从实验室走向临床。(1) 精进细胞制备技术: 转染效率和扩增能力是制约 CAR-NK 细胞制备的关键因素。纳米材料为 CAR-NK 细胞高效转染提供新方案。经优化的 mRNA-LNP(脂质纳米颗粒非病毒递送系统)可实现超 80% 转染效率,并确保 CAR 稳定表达。这种技术不仅提高转染效率,还减少细胞损伤和 mRNA 降解问题,为 CAR-NK 细胞高效制备奠定基础^[44]。另外,自动化生产工艺也逐渐成为研究热点。美天旎生物技术公司开发的 CliniMACS Prodigy[®] 平台实现从 NK 细胞分选、转导、扩增到最终制剂的全自动化流程^[45]。(2) 优化靶点设计方案: 有学者开展多靶点设计或逻辑门控回路研究。逻辑门控回路(AND、OR、NOT 可使 CAR-NK 细胞仅在特定条件下被激活,显著提升治疗的特异性和安全性^[46]。Senti Biosciences 开发具有逻辑门控回路的 SENTI-202 CAR-NK 细胞疗法正在进入临床试验阶段。在最低剂量水平治疗下,3 例 AML 患者中有 2 例达到 MRD 阴性 CR。该疗法能选择性靶向并清除表达 CD33 和 FLT3 的血液恶性肿瘤细胞,同时保护健康骨髓细胞^[47]。(3) 改良基因工程技术: 根据目前的文献报道,有望通过基因工程技术解决 CAR-NK 体内续存和 TME 免疫抑制问题。经基因工程改造的可表达 IL-15 的 CAR-NK 细胞在体内表现出更强持久性和抗肿瘤活性^[48]。敲除 TGF- β 受体 II 后的 CAR-NK 细胞,能在实体瘤模型中有效抵抗 TME 免疫抑制因子抑制作用^[49]。(4) 应用联合治疗策略: 通过与化疗、放疗、免疫检查点抑制剂、单克隆抗体、小分子抑制剂以及溶瘤病毒等治疗手段协同应用^[21], CAR-NK 细胞疗法能充分发挥各治疗方式优势,实现互补增效。(5) 优化临床试验设计以及完善监管框架: 开展多中心临床试验,扩大样本量,提高研究结果的可靠性和普适性。根据肿瘤类型、疾病分期、患者身体状况等因素,精心选择适合 CAR-NK 细胞治疗的患者。设计合理的治疗方案,包括 CAR-NK 细胞的剂量、输注频率、联合治疗策略等。建立严格的安全性评估体系,确保 CAR-NK 细胞治疗的安全性。监管机构应要求临床试验提供详细的不良事件报告,对可能出现的严重不良反应进行及时监测和处理。CAR-NK 细胞治疗涉及复杂的伦理问题,如患者的知情同意、治疗的风险与收益评估等,伦理审查委员会应严格审查临床试验方案,保护患者的权益。

总结 CAR-NK 细胞疗法在安全性和普适性方面展现出显著优势。然而,该疗法在转染效率、TME 抑制、体内续存能力等方面仍面临挑战。尽管 CAR-NK 细胞疗法的研究和临床应用已取得重要进展,但其长期效果和安全性仍需进一步验证。未来的研究方向聚焦于细胞制备技术、靶点设计方案、基因工程技术、联合治疗策略、临床试验设计以及监管框架等多个关键领域。推进这些方向将有助于克服当前挑战,进一步提升 CAR-NK 细胞疗法的临床应用价值。

参 考 文 献

- [1] Hsu CY, Pallathadka H, Jasim SA, et al. Innovations in cancer immunotherapy: A comprehensive overview of recent breakthroughs and future directions [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2025, 206: 104588.
- [2] Wang M, Yu F, Zhang Y. Present and future of cancer nano-immunotherapy: opportunities, obstacles and challenges [J]. *Mol Cancer*, 2025, 24(1): 26.
- [3] Huang R, Wang X, Yan H, et al. Safety and efficacy of CD33-targeted CAR-NK cell therapy for relapsed/refractory AML: preclinical evaluation and phase I trial [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2025, 14(1): 1.
- [4] Albarrán-Fernández V, Angelats L, Delgado J, et al. Unlocking the potential of engineered immune cell therapy for solid tumors [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 1144.
- [5] Zhang B, Yang M, Zhang W, et al. Chimeric antigen receptor-based natural killer cell immunotherapy in cancer: from bench to bedside [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(1): 50.
- [6] Jahan F, Penna L, Luostarinen A, et al. Automated and closed clinical-grade manufacturing protocol produces potent NK cells against neuroblastoma cells and AML blasts [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 26678.
- [7] Pang Z, Wang Z, Li F, et al. Current Progress of CAR-NK Therapy in Cancer Treatment [J]. *Cancers*, 2022, 14(17): 4318.
- [8] Yao P, Liu Y-G, Huang G, et al. The development and application of chimeric antigen receptor natural killer (CAR-NK) cells for cancer therapy: current state, challenges and emerging therapeutic advances [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2024, 13(1): 118.
- [9] Sauter CS, Borthakur G, Mountjoy L, et al. 2097 A Phase 1 Study of NKX101, a Chimeric Antigen Receptor Natural Killer (CAR-NK) Cell Therapy, with Fludarabine and Cytarabine in Patients with Acute Myeloid Leukemia [J]. *Blood*, 2023, 142: 2097-2097.
- [10] Marin D, Li Y, Basar R, et al. Safety, efficacy and determinants of response of allogeneic CD19-specific CAR-NK cells in CD19(+) B cell tumors: a phase 1/2 trial [J]. *Nat Med*, 2024, 30(3): 772-784.
- [11] Fumarola S, Lucarini A, Lucchetti G, et al. Predictors of cord blood unit cell content in a volume unrestricted large series collections: a chance for a fast and cheap multiparameter selection model [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 246.
- [12] Xiao L, Cen D, Gan H, et al. Adoptive Transfer of NKG2D CAR mRNA-Engineered Natural Killer Cells in Colorectal Cancer Patients [J]. *Mol Ther*, 2019, 27(6): 1114-1125.
- [13] Burger MC, Forster MT, Romanski A, et al. Intracranial injection of natural killer cells engineered with a HER2-targeted chimeric antigen receptor in patients with recurrent glioblastoma [J]. *Neurooncol*, 2023, 25(11): 2058-2071.
- [14] Zhang X, Guo Y, Ji Y, et al. Cytokine release syndrome after modified CAR-NK therapy in an advanced non-small cell lung cancer patient: a case report [J]. *Cell Transplant*, 2022, 31: 9636897221094244.
- [15] Zhao C, Zhang L, Zheng Z, et al. Case report: sudden death following the administration of CAR-NK cells for lung cancer immunotherapy [J]. *Forensic Sci Med Pathol*, 2024, 20(2): 690-695.
- [16] Li C, Yang N, Li H, et al. Robo1-specific chimeric antigen receptor natural killer cell therapy for pancreatic ductal adenocarcinoma with liver metastasis [J]. *J Cancer Res Ther*, 2020, 16(2): 393-396.
- [17] Wang Z, Gao S, Zhu Y, et al. Systemic lupus erythematosus therapies: a decade of progress and prospects in clinical trials [J]. *J Therap Med*, 2025, 23(1): 169.
- [18] Müller F, Taubmann J, Buccì L, et al. CD19 CAR T-Cell Therapy in Autoimmune Disease - A Case Series with Follow-up [J]. *N Engl J Med*, 2024, 390(8): 687-700.
- [19] Yu Y, Kong R, Xu X, et al. Allogeneic CD19 CAR NK cells therapy in refractory systemic lupus erythematosus: an open-label, single arm, prospective and interventional clinical trial [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2024, 76(suppl 9): L17.
- [20] Zhong Y, Liu J. Emerging roles of CAR-NK cell therapies in tumor immunotherapy: current status and future directions [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 318.
- [21] Hosseinalizadeh H, Wang LS, Mirzaei H, et al. Emerging combined CAR-NK cell therapies in cancer treatment: Finding a dancing partner [J]. *Mol Ther*, 2025, 33(6): 2406-2425.
- [22] Zhang Y, Zhou W, Yang J, et al. Chimeric antigen receptor engineered natural killer cells for cancer therapy [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2023, 12(1): 70.
- [23] Imširović V, Wensveen FM, Polić B, et al. Maintaining the Balance: Regulation of NK Cell Activity [J]. *Cells*, 2024, 13(17): 1464.
- [24] Lei T, Wang Y, Zhang Y, et al. Leveraging CRISPR gene editing technology to optimize the efficacy, safety and accessibility of CAR T-cell therapy [J]. *Leukemia*, 2024, 38(12): 2517-2543.
- [25] Wang W, Liu Y, He Z, et al. Breakthrough of solid tumor treatment: CAR-NK immunotherapy [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 40.
- [26] Andrea AE, Chiron A, Sarabayrouse G, et al. A structural, genetic and clinical comparison of CAR-T cells and CAR-NK cells: companions or competitors? [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1459818.
- [27] Chen S, Zhu H, Jounaidi Y. Comprehensive snapshots of natural killer cells functions, signaling, molecular mechanisms and clinical utilization [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 302.
- [28] Jia H, Yang H, Xiong H, et al. NK cell exhaustion in the tumor microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1303605.
- [29] Lim J, Kurzrock R, Nishizaki D, et al. Pan-cancer analysis of TIM-3 transcriptomic expression reveals high levels in pancreatic cancer and interpatient heterogeneity [J]. *Cancer Med*, 2024, 13(1): e6844.
- [30] Kuai W, Xu X, Yan J, et al. Prognostic Impact of PD-1 and Tim-3 Expression in Tumor Tissue in Stage I-III Colorectal Cancer [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020(1): 5294043.
- [31] Zhu B, Chen P, Aminu M, et al. Spatial and multiomics analysis of human and mouse lung adenocarcinoma precursors reveals TIM-3 as a putative target for precancer interception [J]. *Cancer Cell*, 2025, 43(6): 1125-1140.
- [32] Soleimani Samarkhazan H, Noormohamadi H, Shafiei FS, et al. Targeting acute myeloid leukemia through antibody engineering: innovations in immunotherapy and combination regimens [J]. *Clin Exp Med*, 2025, 25(1): 215.
- [33] Liu Y, Xu L, Dou Y, et al. AXL: shapers of tumor progression and immunosuppressive microenvironments [J]. *Mol Cancer*, 2025, 24(1): 11.
- [34] Zhang J, Yao M, Xia S, et al. Systematic and comprehensive insights into HIF-1 stabilization under normoxic conditions:

- implications for cellular adaptation and therapeutic strategies in cancer[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2025, 30(1):2.
- [35] Shi S, Ou X, Liu C, et al. Research progress of HIF-1 α on immunotherapy outcomes in immune vascular microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2025, 16:1549276.
- [36] 金梦茹, 王莉, 李燕京. 乳酸对肿瘤微环境中免疫细胞的影响及相关靶点治疗的研究进展[J]. *肿瘤防治研究*, 2023, 50(6):634-640.
- [37] Ciepła J, Smolarczyk R. Tumor hypoxia unveiled; insights into microenvironment, detection tools and emerging therapies[J]. *Clin Exp Med*, 2024, 24(1):235.
- [38] Niland S, Riscanevo AX, Eble JA. Matrix Metalloproteinases Shape the Tumor Microenvironment in Cancer Progression[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23(1):146.
- [39] Gouarderes S, Mingotaud AF, Vicendo P, et al. Vascular and extracellular matrix remodeling by physical approaches to improve drug delivery at the tumor site[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2020, 17(12):1703-1726.
- [40] 李梦媛, 蒋小猛, 孙沁怡, 等. CAR-T 新型联用策略治疗实体瘤研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2023, 54(4):443-449.
- [41] 黄婧, 邹俊娜, 任欢欢, 等. 促进抗癌纳米药物肿瘤渗透的新型策略[J]. *药学报*, 2022, 57(6):1758-1770.
- [42] Magnussen AL, Mills IG. Vascular normalisation as the stepping stone into tumour microenvironment transformation [J]. *Br J Cancer*, 2021, 125(3):324-336.
- [43] Zhu X, Xue J, Jiang H, et al. CAR-NK cells for gastrointestinal cancer immunotherapy: from bench to bedside [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1):237.
- [44] Salehi-Shadkani H, Sedghi M, Tavooosi S, et al. Effective targeting of CD19 positive primary B-ALL cells using CAR-NK cells generated with mRNA-LNPs[J]. *bioRxiv*, 2024, 12:624707.
- [45] Fernández A, Navarro-Zapata A, Escudero A, et al. Optimizing the Procedure to Manufacture Clinical-Grade NK Cells for Adoptive Immunotherapy[J]. *Cancers*, 2021, 13(3):577.
- [46] Dagher OK, Posey AD. Forks in the road for CAR T and CAR NK cell cancer therapies[J]. *Nat Immunol*, 2023, 24(12):1994-2007.
- [47] Biosciences S. Senti Bio Announces Positive Initial Clinical Data in Phase 1 Clinical Trial of SENTI-202, a Logic Gated, Selective CD33/FLT3-Targeting CAR-NK Cell Therapy for the Treatment of Relapsed/Refractory Hematologic Malignancies Including AML [EB/OL]. 2024. <https://www.globenewswire.com/news-release/2024/12/02/2989665/0/en/Senti-Bio-Announces-Positive-Initial-Clinical-Data-in-Phase-1-Clinical-Trial-of-SENTI-202-a-Logic-Gated-Selective-CD33-FLT3-Targeting-CAR-NK-Cell-Therapy-for-the-Treatment-of-Relap.html>.
- [48] Guo S, Lei W, Jin X, et al. CD70-specific CAR NK cells expressing IL-15 for the treatment of CD19-negative B-cell malignancy[J]. *Blood Adv*, 2024, 8(11):2635-2645.
- [49] Ren Y, Xue M, Hui X, et al. Chimeric cytokine receptor TGF- β R II/IL-21R improves CAR-NK cell function by reversing the immunosuppressive tumor microenvironment of gastric cancer[J]. *Pharmacol Res*, 2025, 212:107637.

(收稿日期:2025-04-17)