

DOI: 10.13376/j.cbls/2019078

文章编号: 1004-0374(2019)07-0651-09

· 评述与综述 ·

从“个体化”到“精准化”的肿瘤免疫细胞治疗

黄迪¹, 龚畅¹, 宋尔卫^{1,2*}

(1 中山大学孙逸仙纪念医院乳腺肿瘤中心, 广东省恶性肿瘤表观遗传与基因调控
重点实验室, 广州 510120; 2 中山大学中山医学院, 广州 510080)

摘要: 近年来, 肿瘤免疫治疗在多种恶性肿瘤中显示了确切的临床疗效, 主要包括免疫检查点抑制剂和免疫细胞治疗。其中, 肿瘤的免疫细胞治疗是通过回输激活的免疫细胞来介导抗肿瘤的免疫反应, 以达到治疗肿瘤的目的。肿瘤细胞免疫治疗经历了从广泛性杀伤到肿瘤特异性杀伤的个体化模式的转变, 而随着对实体肿瘤高度异质性的深入认识, 肿瘤免疫细胞治疗更趋向于“精准化”。现综述细胞免疫治疗的分类及目前面临的困境, 并探索细胞免疫在抗肿瘤治疗中的未来发展趋势。

关键词: 肿瘤免疫治疗; 免疫细胞治疗; 免疫抑制

中图分类号: R197.3; R730.3 **文献标志码:** A

Adoptive immune cell therapy for malignant tumors moves from “individualization” to “precision”

HUANG Di¹, GONG Chang¹, SONG Er-Wei^{1,2*}

(1 Breast Tumor Center, Guangdong Provincial Key Laboratory of Malignant Tumor Epigenetics and Gene Regulation, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China;
2 Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Immunotherapy, including immune checkpoint inhibitors and adoptive cell therapy (ACT), is an effective anti-cancer therapy for various malignant tumors. ACT is a form of immunotherapy in which autologous cancer-cognate lymphocytes are expanded and modified *ex vivo* and re-infused to combat the tumor. During the evolvement of ACT, cellular immunotherapy has experienced the individual pattern moving from extensive killing to tumor-specific killing. With the deep understanding of the high heterogeneity of solid tumors, precision immunotherapy is changing the landscape of cancer immunotherapy. In the current review, we describe the classification of cellular immunotherapy. The future directions and unresolved dilemmas of cellular immunotherapy are also discussed.

Key words: tumor immunotherapy; adoptive cell therapy; immune suppression

肿瘤免疫是机体对肿瘤细胞产生的特异性免疫反应。早在 1957 年, Burnet 提出“免疫监视学说”, 认为免疫系统可以通过抗原提呈细胞 (antigen-

presenting cells, APC) 识别肿瘤特异性抗原并呈递给 T 细胞, 从而激活后者分泌穿孔素、颗粒酶等物质杀伤肿瘤细胞。肿瘤免疫的过程可分为消除、相持、

收稿日期: 2019-01-13; 修回日期: 2019-03-15

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC1302300); 国家自然科学基金项目(81720108029, 81621004, 81490750, 81672594, 81772836, 81872139, 81802643); 广东省科技计划项目(2016B030229004); 广东省重点实验室项目(2017B030314026); 广东省自然科学基金项目(2018A030310085); 广州市科技计划项目(健康医疗协同创新重大专项滚动支出项目)(201803040015); 广州再生医学与健康广东省实验室临床创新研究项目(2018GZR0201004)

*通信作者: E-mail: songew@mail.sysu.edu.cn

逃逸3个阶段。在免疫逃逸阶段,由于肿瘤细胞的肿瘤特异性抗原缺失、抗原提呈细胞的主要组织相容性复合体(MHC)低表达、T细胞活性受到抑制或者耗竭、T细胞无法浸润至肿瘤局部等因素,阻碍了有效的免疫反应^[1-2]。因此,近年来针对免疫逃逸的机制设计各类肿瘤免疫治疗的方案,在抗肿瘤治疗上取得了重大突破。

近期,肿瘤免疫治疗在临床使用的进展主要体现在两个方面,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors)和免疫细胞治疗(adoptive cell therapy, ACT; 又称过继性免疫细胞治疗)。近30年来第一个被证明能延长晚期黑色素瘤生存的药物——靶向免疫检查点分子CTLA4的伊匹木单抗(ipilimumab)^[3],以及在治疗黑色素瘤、肺癌、膀胱癌等多种恶性肿瘤中取得了显著疗效的PD-1/PD-L1单抗,均属于免疫检查点抑制剂^[4-5]。该种肿瘤免疫治疗的方法获得了2018年诺贝尔生理学或医学奖。此外,细胞免疫治疗通过回输激活的免疫细胞介导抗肿瘤免疫反应,以达到治疗肿瘤的目的。与传统的肿瘤治疗手段相比,细胞免疫治疗更注重个体化,同时还能产生持久的抗肿瘤免疫记忆。本文详细描述了细胞免疫治疗的分类及现在面临的困境,探索细胞免疫在抗肿瘤治疗中的发展趋势。

1 细胞免疫治疗的分类

1.1 淋巴因子激活的杀伤细胞

淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer cells, LAK)是最早的细胞免疫治疗方法。利用白介素2(interleukin 2, IL-2)处理肿瘤患者或者健康人外周血单核白细胞(peripheral blood mononuclear leukocytes, PBL),诱导出LAK,其可以杀伤对自然杀伤细胞(natural killer cells, NK)不敏感的肿瘤细胞。1985年, Rosenberg等^[6]应用LAK疗法治疗25例恶性肿瘤转移患者,11例患者出现了肿瘤缓解,其中1例转移性黑色素瘤患者病灶完全缓解,免疫细胞治疗临床初见成效。然而,由于LAK细胞缺乏抗原特异性,容易出现全身不良反应,且回输细胞中存在着较多免疫抑制细胞从而降低了LAK的治疗效率^[7]。因此,LAK细胞逐渐被人淡忘。

1.2 肿瘤浸润淋巴细胞

在LAK治疗后, Rosenberg等^[8]采用一种新的细胞免疫治疗方法——肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL)疗法。与LAK疗法相比,TIL疗法具有一定的肿瘤特异性,临床

效果优于LAK治疗^[9]。在动物实验中,过继性回输经IL-2扩增的TIL到发生恶性肿瘤转移的小鼠体内,发现这些TIL的抗肿瘤效果是LAK的50~100倍^[8]。1988年, Topalian等^[10]应用TIL治疗12例转移性癌患者,但仅有3例患者获得部分缓解;TIL同样由多种淋巴细胞混合组成,且其回输的效应维持时间较短,导致TIL治疗效果欠佳。2002年, Rosenberg和 Restifo^[11]对TIL细胞治疗进行改进,通过持续回输单克隆的抗肿瘤CD8杀伤淋巴细胞,可较长时间维持TIL在循环系统中稳定存在,使得临床缓解率明显改善。目前,TIL临床治疗黑色素瘤的疗效较为明显,但在其他实体瘤中却收效甚微,可能与实体瘤中TIL数目少且功能缺失相关。

1.3 细胞因子诱导的杀伤细胞和链式激活的免疫细胞

细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells, CIK)是通过细胞因子IL-2、CD3单抗以及干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ)共同诱导外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)而获得。动物实验的结果提示CIK细胞具有较LAK更强的抗肿瘤活性,其组成部分主要是NKT细胞(CD3⁺CD56⁺),包含少量的NK细胞(CD3⁻CD56⁺)以及杀伤T细胞(CD3⁺CD56⁻)^[12]。CIK是非主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性的杀伤细胞,在血液系统肿瘤及肝癌、肺癌等实体肿瘤的治疗中有一定的疗效^[13]。

链式激活的免疫细胞(cascade-primed immune cells, CAPRI)是在CIK的基础上发展而来,CAPRI主要是利用患者自身的PBMC,加入CD3单抗和IL-2激活,并在体外将初始T细胞诱导为杀伤性效应细胞。CAPRI细胞治疗的临床效果优于CIK、LAK等细胞治疗,延长了转移性乳腺癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤患者的生存时间^[14]。

1.4 树突状细胞

树突状细胞(dendritic cells, DC)是主要的抗原提呈细胞,通过识别抗原呈递给淋巴细胞,是启动适应性免疫的关键细胞。DC自身即可作为肿瘤疫苗,负载肿瘤抗原相关的多肽后回输至体内,可激活机体释放IFN- γ 等炎症因子,调动免疫^[15]。2010年,第一个获得美国FDA批准的自体细胞免疫治疗方法——Sipuleucel-T,就是通过GM-CSF和前列腺癌相关抗原PAP激活PBMC,获得了包括DC、CD4、CD8淋巴细胞以及NK细胞、B细胞在内的激活的免疫细胞;患者接受Sipuleucel-T细胞

回输治疗后,引起肿瘤抗原特异的免疫反应,使既往内分泌治疗无效的转移性前列腺癌患者获得生存获益^[16]。

DC还可以和CIK治疗联用,或者通过多肽直接处理、质粒或病毒转染肿瘤抗原的核酸序列、肿瘤裂解物、外泌体等多种方式负载肿瘤抗原,在体外将抗原呈递给T细胞,构建出肿瘤特异的杀伤性T细胞(cytotoxic T cell, CTL),并进行回输^[17-18]。一项I期临床试验显示,在11例转移性黑色素瘤患者中,回输Melan-A抗原特异的杀伤性T细胞,有3例获得了肿瘤缓解^[18]。在另一项I期临床试验中,辅助CD4⁺T细胞通过DNA去甲基化酶处理后可表达内源性的肿瘤/睾丸抗原,作为APC细胞可体外诱导CTL激活,再回输到25例复发的胶质母细胞瘤患者中,其中3例获得肿瘤缓解^[19]。这些临床研究提示,DC-CIK和肿瘤特异淋巴细胞过继性回输的方法可使部分患者的肿瘤缓解,但总体缓解率不高。

1.5 T细胞受体基因修饰T细胞

T细胞受体基因修饰T细胞(T-cell receptor-engineered T cells, TCR-T)技术是利用患者自身的外

周血T细胞,通过基因修饰将针对肿瘤相关抗原的TCR序列转入T细胞中,成为肿瘤抗原特异性T细胞,这是针对不同患者肿瘤抗原的差异所进行的“个体化”治疗(图1)。TCR-T治疗方法最初应用于黑色素瘤,将针对肿瘤抗原MART-1的TCR-T回输到转移性黑色素瘤患者的体内,可在患者体内维持1年,其维持时间与肿瘤缓解率相关^[20]。2011年首次在非黑色素瘤的恶性肿瘤中使用TCR-T进行治疗,将带有NY-ESO-1相关的TCR序列的自体T细胞回输至NY-ESO-1⁺的滑膜细胞肉瘤及黑色素瘤患者体内,临床治疗效果明显^[21]。此后多项研究证明滑膜细胞肉瘤、黑色素瘤以及多发性骨髓瘤患者在接受了NY-ESO-1 TCR-T后,肿瘤出现部分或完全消退,其中位生存时间明显延长^[22-23]。由于TCR-T是MHC限制性的,仅能用于患者自身的治疗,这限制了TCR-T临床应用的延展性。

1.6 嵌合抗原受体T细胞

另一种基因修饰T细胞的方法——嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor-modified T cell, CAR-T)则是通过表达与肿瘤抗原相结合的单链抗体片段(ScFv)联合胞内T细胞受体信号域(CD3ζ),

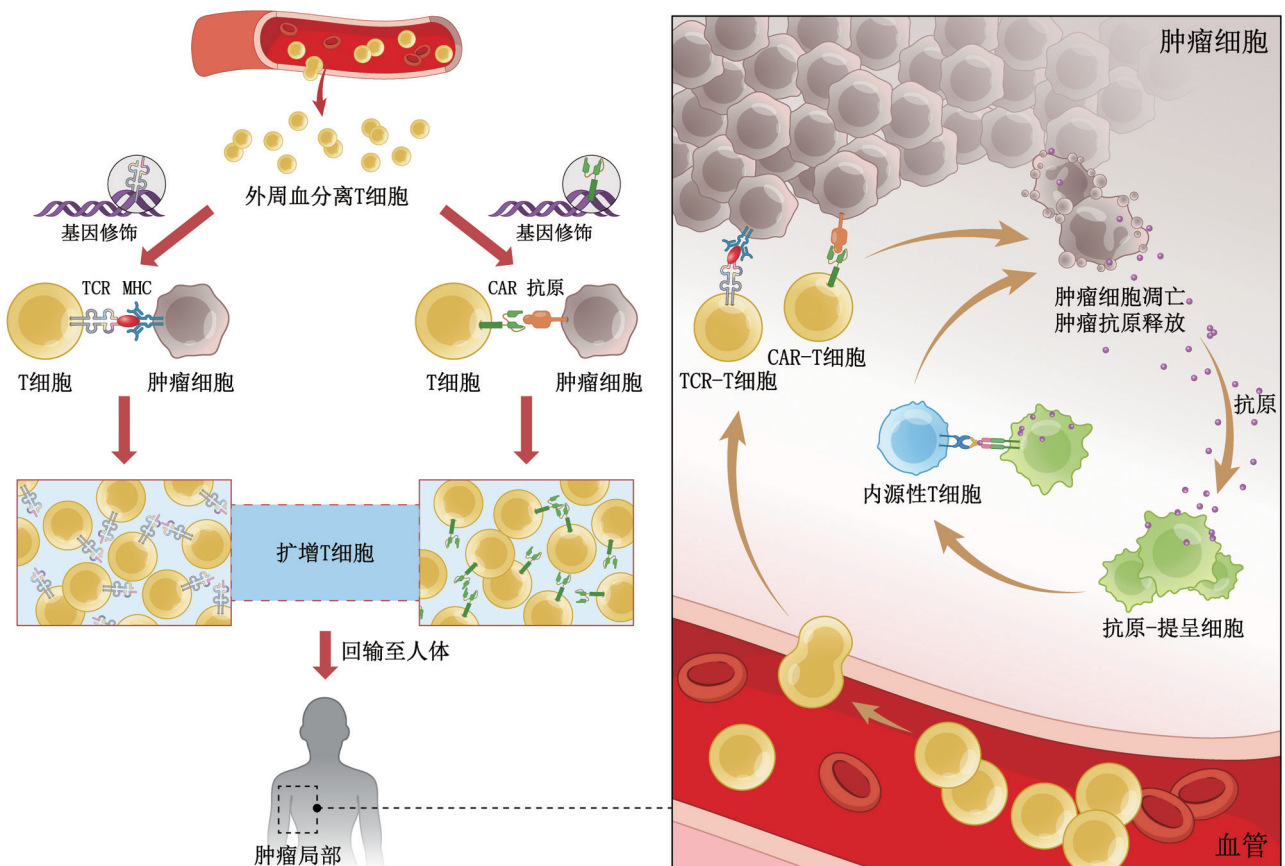


图1 过继性回输TCR-T或CAR-T细胞的过程

使 T 细胞与肿瘤细胞结合,介导杀伤功能,是 MHC 非限制性的(图 1),这也是第一代的 CAR-T 技术,但在早期的临床试验中并没有显示明显的获益。第二、三代 CAR-T 是在第一代的基础上加入共刺激分子 CD28 或(和)CD137 的信号域,以增强 CAR-T 分泌细胞因子,从而增强其杀伤肿瘤的能力^[24-25]。第二、三代的 CD19 CAR-T 治疗在进展性慢性淋巴细胞白血病、复发性或难治性急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤以及 B 细胞恶性肿瘤中显示了显著的临床疗效,超过 2/3 的患者出现了肿瘤消退,延长了生存时间^[26-28]。CAR-T 的设计取决于肿瘤抗原的表达以及与 CAR-T 的结合力,针对不同的肿瘤类型有不同的特异性抗原,甚至同一种恶性肿瘤在不同患者上也有明显差异,由此可见,CAR-T 的“个体化”特点提高了免疫细胞治疗的疗效。CD19 CAR-T 已被 FDA 批准用于复发性或难治性急性淋巴细胞白血病及弥漫性大 B 细胞瘤的治疗。但是,CAR-T 对实体肿瘤的治疗效果仍较差,如针对神经母细胞瘤的 GD2 CAR-T^[29]以及针对 HER2⁺骨肉瘤、乳腺癌等恶性肿瘤的 HER2 CAR-T^[30],其疗效主要受限于实体肿瘤的异质性,CAR-T 引起初始肿瘤的

消退,但剩余抗原阴性的肿瘤细胞因没有被 CAR-T 识别而继续进展。基于此,添加了特定细胞因子基因的第四代 CAR-T 技术应运而生。在 CD19 CAR-T 上添加 IL-12 的基因,使 CAR-T 在消灭抗原阳性的肿瘤细胞的同时,释放出细胞因子 IL-12,激活机体的固有免疫反应,通过吸引并激活固有免疫细胞从而消除剩余肿瘤细胞,也称为“TRUCK T 细胞”^[31]。

2 细胞免疫治疗面临的问题及解决方案

患者接受治疗性抗肿瘤 T 细胞的回输后, T 细胞需要经过迁移、识别并杀伤肿瘤细胞、体内的增殖与维持,最终到达复杂的肿瘤微环境或者机体全身发挥抗肿瘤功能。该过程中的每个步骤均存在着许多拮抗 T 细胞抗肿瘤作用的因素,这也是细胞免疫治疗所面临的困境(图 2A)。目前,解决现有困境的主要办法是探索并发现增强 T 细胞的抗肿瘤功能或减少抑制其功能的关键因素,从而为针对肿瘤的免疫细胞治疗提供更精细的策略。

2.1 肿瘤微环境的抑制作用

临床研究显示,大部分的细胞免疫治疗,如

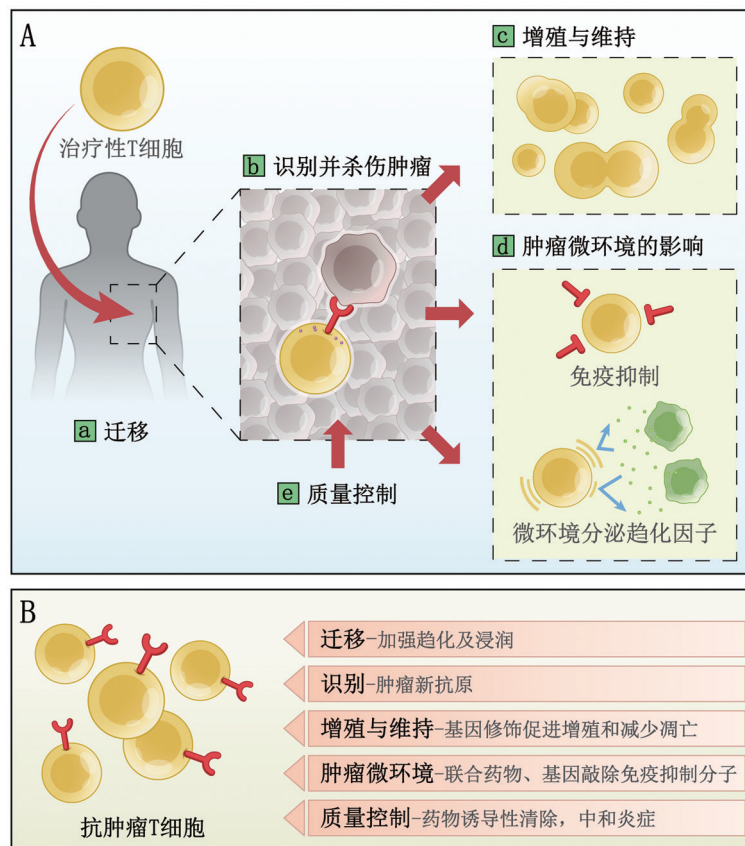


图2 治疗性T细胞面临的主要问题(A)及提高治疗性T细胞功效的方向(B)

TCR-T、CAR-T 等对血液系统肿瘤如白血病、黑色素瘤等有显著的疗效,而对实体肿瘤却收效甚微^[21-22,32-43](表1)。其中一个重要的原因是,实体肿瘤具有更复杂的肿瘤微环境。肿瘤微环境是指肿瘤组织中除癌细胞外的间质细胞以及非细胞组分,而免疫抑制的微环境包括起免疫抑制作用的肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM)、调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)等以及免疫抑制因子IL-10、IL-4、TGF-β等^[44-46]。免疫抑制的微环境不仅抑制肿瘤内部的T细胞的活性,还会抑制过继性回输T细胞的功能。研究者通过在过继性回输的T细胞中表达免疫抑制因子受体的负性调节区,可以中和免疫抑制因子的作用。例如,在EBV阳性淋巴瘤的肿瘤抗原特异T细胞中表达TGF-β受体II的负性调节区(DNR II)可抵抗肿瘤分泌的TGF-β^[47];而在T细胞中转入IL-4及IL-7受体,可逆转IL-4对T细胞增殖的抑制作用^[48]。

另外,肿瘤细胞、TAM等均可表达PD-L1分子,与T细胞上的PD-1结合,耗竭T细胞的活性,同时也耗竭了过继性回输T细胞的功能。在CD19 CAR-T靶向B细胞血液肿瘤和MUC16 CAR-T靶

向卵巢癌和胰腺癌中,研究者通过在CAR-T上进一步表达PD-1的单克隆抗体片段,可使这些改造后的CAR-T在体内持续更长的时间,产生更好的治疗效果。同时,检查点药物还可被释放到肿瘤中,激活附近的T细胞,创造出更有利的抗肿瘤微环境效应^[49]。此外,通过携带PD-1 shRNA或PD-1的主要负性受体^[50],或者通过CRISPR/Cas9技术敲除CAR-T的PD-1外显子区^[51],也可阻断肿瘤细胞及微环境细胞表达的PD-L1信号通路。

过继性回输的淋巴细胞在体内的生存时间与肿瘤缓解率成正相关,在体内生存的时间越长,杀伤的肿瘤细胞越多。然而,经过“教育”的肿瘤特异T细胞容易被肿瘤组织中的FasL诱导凋亡^[45,52]。本课题组的研究证实,通过体外基因干扰技术沉默T细胞中长非编码RNA NKILA的表达可减少肿瘤引起的T细胞凋亡,增强过继性回输T细胞的抗肿瘤能力^[45];而在CD20 CAR-T上表达IL-7以及CCL19也可增强其生存能力,保持CAR-T在肿瘤中的浸润,增强其杀伤肿瘤的能力^[53]。

近年来,越来越多的研究发现TCR-T、CAR-T经过基因编辑、体外激活扩增后,表达大量免疫耗

表1 近五年来实体瘤接受细胞治疗的临床试验(2014—2018)

治疗方法	肿瘤类型	靶点	共刺激域	总例数	临床反应	文献
TCR-T	滑膜细胞肉瘤	NY-ESO-1	-	18	10PR、1CR、7NR	[21]
	黑色素瘤	NY-ESO-1	-	20	7PR、4CR、9NR	[21]
	多发性骨髓瘤	NY-ESO-1、LAGE-1	-	20	14CR、4PR、1SD、1PD	[22]
	食管癌	MAGE-A4	-	10	7PD、3SD	[32]
	黑色素瘤	MART-1	-	13	6PD、7SD	[33]
	黑色素瘤	MART-1	-	5	5PD	[34]
	黑色素瘤	gp100	-	10	10PD	[34]
CAR-T	复发性、多灶性胶质母细胞瘤	IL13Rα2	CD137-CD3ζ	1	1CR	[35]
	胃、结肠癌肝转移	CEA	CD28-CD3ζ	6	1SD、5PD	[36]
	结直肠癌	CEA	CD28-CD3ζ	10	7SD、3PD	[37]
	胃癌	CEACAM5	CD3ζ	3	1SD、2PD	[38]
	结肠癌	CEACAM5	CD3ζ	3	3SD	
	直肠癌	CEACAM5	CD3ζ	2	2PD	
	盲肠癌	CEACAM5	CD3ζ	1	1PD	
	假性黏液瘤	CEACAM5	CD3ζ	1	1SD	
	食管癌	CEACAM5	CD3ζ	2	1SD、1PD	
	胰腺癌	CEACAM5	CD3ζ	1	1SD	
	胆管癌	EGFR-CD133	4-1BB-CD3ζ	1	1PR	[39]
	乳腺癌	c-Met	4-1BB-CD3ζ	6	2PD、1SD、3DOD	[40]
	前列腺癌	PSMA	CD3ζ	5	2PR、3PD	[41]
	胰腺癌	MSLN	4-1BB-CD3ζ	6	2SD、4PD	[42]
	非小细胞肺癌	EGFR	4-1BB-CD3ζ	11	2PR、5SD、4PD	[43]

注: PR, 部分缓解; CR, 完全缓解; SD, 病情稳定; PD, 病情进展; DOD, 死于疾病; NR, 没有反应

竭分子,且容易发生凋亡^[54]。因此,在个性化的 TCR-T 或 CAR-T 的治疗方法基础上,免疫细胞治疗出现了针对不同的免疫逃逸机制的新靶点,减少肿瘤微环境对 TCR-T、CAR-T 细胞的免疫抑制或耗竭,同时增强其生存、趋化及浸润。目前,这些新靶点及其联合 TCR-T、CAR-T 的方法仍在探索过程,尚未进入临床研究阶段,但是日趋精准的靶向免疫细胞治疗在体外及动物模型中都获得更优的治疗效果,是未来细胞免疫治疗精准化的发展方向。

2.2 肿瘤特异性抗原的缺乏

肿瘤抗原的选择是构建、诱导肿瘤特异 T 细胞的关键因素。然而,由于许多实体恶性肿瘤缺乏特异的抗原,使 T 细胞无法准确靶向肿瘤细胞,免疫治疗效果欠佳。如 MUC1、HER2 等均是肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA), 却非肿瘤特异抗原 (tumor-specific antigen, TSA)。另外,抗原特异性的缺乏会导致不良反应的发生。在一项 MART-1 TCR-T 及 gp100 TCR-T 治疗恶性黑色素瘤的临床研究中,TCR-T 同时靶向了皮肤、眼、耳朵中具有相同抗原的正常黑色素细胞,出现了葡萄膜炎、白癜风、听觉下降等不良反应^[55]。在另一项 CEA TCR-T 的研究中,甚至出现了严重的炎症性肠病,危及生命^[56]。这些由于肿瘤抗原特异性低而导致的不良反应大大地限制了 TCR-T 治疗的临床应用。因此,对肿瘤新抗原的筛选和开发是 TCR-T 的主要发展方向,可通过对肿瘤组织及正常组织的高通量全基因组或外显子测序,筛选肿瘤组织特有的抗原或突变位点。由于不同的抗原表位被加工和提呈的能力差异明显,引起 T 细胞免疫应答的能力也有所不同,因此通过生物信息学筛选,预测出可被 MHC 呈递的抗原表位,分析 MHC-抗原表位亲和力算法,筛选有效的 TCR 序列,可实现免疫治疗的“精准化”,减少不良反应的发生。

双靶点 CAR-T 细胞是细胞免疫治疗的策略之一,可以避免单一靶抗原的丢失,增强 CAR-T 与肿瘤细胞的亲和力。在血液系统肿瘤中,虽然其抗原相对固定,免疫原性较强,但其仍存在抗原缺失的情况。例如,在急性淋巴细胞白血病中出现 CD19 的突变以及选择性剪切造成的突变,会导致患者对 CD19 CAR-T 细胞免疫治疗耐受。研究者通过联合 CD123 CAR-T 及 CD19 CAR-T 治疗,可有效避免 CD19 阴性的肿瘤细胞发生免疫逃逸^[57]。另外,还可通过序贯 CAR-T 治疗,提高肿瘤缓解率。

2.3 免疫治疗的不良反应

除上述由于抗原特异性不强所引起的广泛性损害,许多过继性免疫治疗还会引起约 25% 的患者出现发热、中性粒细胞低下或缺乏症、低钾血症等症状,其中最严重的不良反应是炎症细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS)^[58],其主要原因是经过基因修饰的 T 细胞处于激活状态,自身就可以释放多种炎症细胞因子,从而造成患者发热、低血压、肺水肿等。过继性回输的 T 细胞在治疗肿瘤过程中,当与肿瘤细胞结合后造成肿瘤细胞崩解,释放出内在的大量细胞因子或代谢产物,如 IL-6、IFN- γ 等,触发细胞因子“风暴”,这些症状一般为可逆性的,但也会造成机体多器官的损害,严重时可致命。有研究表明肿瘤负荷越大,发生严重 CRS 的可能性就越大,因此,越早处理及应用细胞免疫治疗可将不良反应降到最低水平^[59]。在过继性细胞治疗的过程中,C 反应蛋白可作为细胞因子风暴的提示标记^[60]。应用细胞因子 IL-6 的单克隆抗体托珠单抗及类固醇激素等,可减少细胞因子风暴引起的不良反应^[61-62]。其他的不良反应还包括神经毒性、昏睡等,严重者还可因发生脑肿胀而死亡^[63],这可能是由于细胞因子引起的血管通透性改变使血脑屏障功能减弱,让更多的炎症因子进入颅内^[64]。

除此之外,最近亦有报道 CAR-T 治疗后复发的案例。在 CD19 CAR-T 治疗一例复发性、难治性 B 细胞急性淋巴性白血病患者时,CAR 被转到恶变的 B 细胞上,与肿瘤细胞表面的 CD19 结合,使 CD19 被耗竭,导致 CAR-T 治疗失效,患者出现复发而死亡^[65]。该个案说明,CAR-T 制作中的不确定性以及 CAR-T 治疗的脱靶效应同样会导致免疫治疗的失败。

不良反应的发生影响了细胞免疫治疗的临床应用。如何安全、高效地应用细胞免疫治疗来进行临床抗肿瘤治疗是未来研究和发展的方向。其中,针对细胞因子风暴发生的原因进行改良方法的研究,可以进一步提高免疫细胞治疗的安全性,让免疫细胞治疗在临床应用得到更广泛的推广,使更多恶性肿瘤患者获益。

3 肿瘤免疫细胞治疗的展望

纵观肿瘤细胞免疫治疗的发展历程,从最初广泛性杀伤的 LAK、CIK 模式,逐步发展至针对肿瘤细胞特异性杀伤的 DC 疫苗、TCR-T 及 CAR-T 治疗,从初始的缓解率极低到现在的部分恶性肿瘤的临床

显效,从有较多不可控制的不良反应到不良反应的可控、可处理,可以看出肿瘤的细胞免疫治疗在向“个体化”和“精准化”的方向发展,其中在细胞免疫治疗的种类、针对的人群以及针对不同肿瘤特异性抗原的筛选和应用等方面更强调“精准化”。其中,由于实体恶性肿瘤的高度异质性、肿瘤抗原及突变位点的多样性、肿瘤微环境的组分差异大,甚至同一种间质细胞都有不同的分群及功能,更要求肿瘤免疫细胞治疗的“精准化”。未来的研究策略之一是通过增强T细胞的抗肿瘤功能,防止免疫逃逸的发生,进一步改造过继性回输的T细胞。TCR-T可以通过高通量测序的方法筛选新的肿瘤抗原,而肿瘤抗原也可从传统意义上的蛋白质发展为核酸、外泌体等多种形式;CAR-T细胞不仅可以通过改造载体增强自身功能,包括表达抗体及TCR-共刺激分子信号胞内段发挥功能、通过纳米载体将CAR基因运输到特定的T细胞内、构建可分泌细胞因子或趋化因子从而调动机体自身免疫或增强CAR-T趋化到肿瘤内,还可通过CRISPR/Cas9同时敲除多个免疫抑制性受体或凋亡相关分子,从而规避肿瘤微环境带来的挑战。同时,还可考虑联合使用多种CAR-T或其他免疫治疗方法,提高疗效。在安全性方面,可通过引入药物或者炎症因子的中和抗体控制超敏反应,避免免疫细胞治疗的不良反应(图2B)。

因此,利用更先进的技术手段,创造出日益精准的免疫治疗方案,联合新型肿瘤免疫检查点抑制剂或新型靶向肿瘤微环境的药物,有望实现细胞免疫治疗从“个体化”到“精准化”的转变。

[参 考 文 献]

- [1] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*, 2002, 3: 991-8
- [2] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*, 2004, 21: 137-48
- [3] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 2010, 363: 711-23
- [4] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med*, 2012, 366: 2443-54
- [5] Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*, 2012, 366: 2455-65
- [6] Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med*, 1985, 313: 1485-92
- [7] Vetto JT, Papa MZ, Lotze MT, et al. Reduction of toxicity of interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells in humans by the administration of corticosteroids. *J Clin Oncol*, 1987, 5: 496-503
- [8] Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*, 1986, 233: 1318-21
- [9] Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med*, 1988, 319: 1676-80
- [10] Topalian SL, Solomon D, Avis FP, et al. Immunotherapy of patients with advanced cancer using tumor-infiltrating lymphocytes and recombinant interleukin-2: a pilot study. *J Clin Oncol*, 1988, 6: 839-53
- [11] Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science*, 2015, 348: 62-8
- [12] Schmidt-Wolf IG, Negrin RS, Kiem HP, et al. Use of a SCID mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity. *J Exp Med*, 1991, 174: 139-49
- [13] Luo H, Gong L, Zhu B, et al. Therapeutic outcomes of autologous CIK cells as a maintenance therapy in the treatment of lung cancer patients: a retrospective study. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 987-93
- [14] Laumbacher B, Gu S, Wank R. Activated monocytes prime naive T cells against autologous cancer: vigorous cancer destruction *in vitro* and *in vivo*. *Scand J Immunol*, 2012, 75: 314-28
- [15] Zitvogel L, Mayordomo JI, Tjandrawan T, et al. Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cells: dependence on T cells, B7 costimulation, and T helper cell 1-associated cytokines. *J Exp Med*, 1996, 183: 87-97
- [16] Sims RB. Development of sipuleucel-T: autologous cellular immunotherapy for the treatment of metastatic castrate resistant prostate cancer. *Vaccine*, 2012, 30: 4394-7
- [17] Specht JM, Wang G, Do MT, et al. Dendritic cells retrovirally transduced with a model antigen gene are therapeutically effective against established pulmonary metastases. *J Exp Med*, 1997, 186: 1213-21
- [18] Mackensen A, Meidenbauer N, Vogl S, et al. Phase I study of adoptive T-cell therapy using antigen-specific CD8⁺ T cells for the treatment of patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol*, 2006, 24: 5060-9
- [19] Kirkin AF, Dzhandzhugazyan KN, Guldborg P, et al. Adoptive cancer immunotherapy using DNA-demethylated T helper cells as antigen-presenting cells. *Nat Commun*, 2018, 9: 785
- [20] Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science*, 2006, 314: 126-9

- [21] Robbins PF, Kassim SH, Tran TL, et al. A pilot trial using lymphocytes genetically engineered with an NY-ESO-1-reactive T-cell receptor: long-term follow-up and correlates with response. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 1019-27
- [22] Rapoport AP, Stadtmauer EA, Binder-Scholl GK, et al. NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma. *Nat Med*, 2015, 21: 914-21
- [23] Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 917-24
- [24] June CH, Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. *N Engl J Med*, 2018, 379: 64-73
- [25] June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science*, 2018, 359: 1361-5
- [26] Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 95ra73
- [27] Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet*, 2015, 385: 517-28
- [28] Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 540-9
- [29] Louis CU, Savoldo B, Dotti G, et al. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma. *Blood*, 2011, 118: 6050-6
- [30] Ahmed N, Brawley VS, 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 Clin Oncol*, 2015, 33: 1688-96
- [31] Chmielewski M, Abken H. TRUCKS: the fourth generation of CARs. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15: 1145-54
- [32] Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, et al. Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene-transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 2268-77
- [33] Chodon T, Comin-Anduix B, Chmielowski B, et al. Adoptive transfer of MART-1 T-cell receptor transgenic lymphocytes and dendritic cell vaccination in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 2457-65
- [34] Chandran SS, Paria BC, Srivastava AK, et al. Persistence of CTL clones targeting melanocyte differentiation antigens was insufficient to mediate significant melanoma regression in humans. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 534-43
- [35] Brown CE, Alizadeh D, Starr R, et al. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *N Engl J Med*, 2016, 375: 2561-9
- [36] Katz SC, Burga RA, 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. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 3149-59
- [37] Zhang C, Wang Z, Yang Z, et al. Phase I escalating-dose trial of CAR-T therapy targeting CEA⁺ metastatic colorectal cancers. *Mol Ther*, 2017, 25: 1248-58
- [38] Thistlethwaite FC, Gilham DE, Guest RD, et al. The clinical efficacy of first-generation carcinoembryonic antigen (CEACAM5)-specific CAR T cells is limited by poor persistence and transient pre-conditioning-dependent respiratory toxicity. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66: 1425-36
- [39] Feng KC, Guo YL, Liu Y, et al. Cocktail treatment with EGFR-specific and CD133-specific chimeric antigen receptor-modified T cells in a patient with advanced cholangiocarcinoma. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 4
- [40] Tchou J, Zhao Y, Levine BL, et al. Safety and efficacy of intratumoral injections of chimeric antigen receptor (CAR) T cells in metastatic breast cancer. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5: 1152-61
- [41] Junghans RP, Ma Q, Rathore R, et al. Phase I trial of anti-PSMA designer CAR-T cells in prostate cancer: possible role for interacting interleukin 2-T cell pharmacodynamics as a determinant of clinical response. *Prostate*, 2016, 76: 1257-70
- [42] Beatty GL, O'Hara MH, Lacey SF, et al. Activity of mesothelin-specific chimeric antigen receptor T cells against pancreatic carcinoma metastases in a phase 1 trial. *Gastroenterology*, 2018, 155: 29-32
- [43] Feng K, Guo Y, Dai H, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of patients with EGFR-expressing advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 468-79
- [44] Su S, Zhao J, Xing Y, et al. Immune checkpoint inhibition overcomes ADCP-induced immunosuppression by macrophages. *Cell*, 2018, 175: 442-57.e23
- [45] Huang D, Chen J, Yang L, et al. NKILA lncRNA promotes tumor immune evasion by sensitizing T cells to activation-induced cell death. *Nat Immunol*, 2018, 19: 1112-25
- [46] Su S, Liao J, Liu J, et al. Blocking the recruitment of naive CD4⁺ T cells reverses immunosuppression in breast cancer. *Cell Res*, 2017, 27: 461-82
- [47] Foster AE, Dotti G, Lu A, et al. Antitumor activity of EBV-specific T lymphocytes transduced with a dominant negative TGF- β receptor. *J Immunother*, 2008, 31: 500-5
- [48] Leen AM, Sukumaran S, Watanabe N, et al. Reversal of tumor immune inhibition using a chimeric cytokine receptor. *Mol Ther*, 2014, 22: 1211-20
- [49] Rafiq S, Yeku OO, Jackson HJ, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances antitumor efficacy *in vivo*. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 847-56
- [50] Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, et al. Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition. *J Clin Invest*, 2016, 126: 3130-44
- [51] Liu X, Zhang Y, Cheng C, et al. CRISPR-Cas9-mediated

- multiplex gene editing in CAR-T cells. *Cell Res*, 2017, 27: 154-7
- [52] Norell H, Martins da Palma T, Leshner A, et al. Inhibition of superoxide generation upon T-cell receptor engagement rescues Mart-1(27-35)-reactive T cells from activation-induced cell death. *Cancer Res*, 2009, 69: 6282-9
- [53] 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. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 346-51
- [54] Ping Y, Liu C, Zhang Y. T-cell receptor-engineered T cells for cancer treatment: current status and future directions. *Protein Cell*, 2018, 9: 254-66
- [55] Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, et al. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood*, 2009, 114: 535-46
- [56] Parkhurst MR, Yang JC, Langan RC, et al. T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis. *Mol Ther*, 2011, 19: 620-6
- [57] Sotillo E, Barrett DM, Black KL, et al. Convergence of acquired mutations and alternative splicing of CD19 enables resistance to CART-19 immunotherapy. *Cancer Discov*, 2015, 5: 1282-95
- [58] Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, et al. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3: 16011
- [59] Kuehn BM. The promise and challenges of CAR-T gene therapy. *JAMA*, 2017, 318: 2167-9
- [60] Teachey DT, Lacey SF, Shaw PA, et al. Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discov*, 2016, 6: 664-79
- [61] Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management. *Blood*, 2016, 127: 3321-30
- [62] Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy -- assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15: 47-62
- [63] Abbasi J. Amid FDA approval filings, another CAR-T therapy patient death. *JAMA*, 2017, 317: 2271
- [64] Gust J, Hay KA, Hanafi LA, et al. Endothelial activation and blood-brain barrier disruption in neurotoxicity after adoptive immunotherapy with CD19 CAR-T cells. *Cancer Discov*, 2017, 7: 1404-19
- [65] Ruella M, Xu J, Barrett DM, et al. Induction of resistance to chimeric antigen receptor T cell therapy by transduction of a single leukemic B cell. *Nat Med*, 2018, 24: 1499-503