

DOI: 10.13376/j.cblls/2023159

文章编号: 1004-0374(2023)11-1462-13

# 溶瘤病毒联合CAR-T细胞治疗实体瘤研究进展

段海潇<sup>1</sup>, 程奕宁<sup>1</sup>, 汪 洋<sup>1</sup>, 胡 翰<sup>1</sup>, 刘滨磊<sup>1,2\*</sup>

(1 湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430068; 2 武汉滨会生物科技股份有限公司, 武汉 436030)

**摘要:** 嵌合抗原受体修饰的T细胞(chimeric antigen receptor T cells, CAR-T)疗法属于肿瘤免疫治疗的范畴。该疗法在血液系统恶性肿瘤治疗中表现优异,但在实体瘤治疗中存在诸多挑战。近年来,溶瘤病毒(oncolytic viruses, OV)在针对黑色素瘤、脑胶质瘤等实体瘤适应证的临床试验中展现出良好的疗效。溶瘤病毒一方面选择性地复制杀伤肿瘤细胞,另一方面通过激活机体自身的免疫系统发挥抗肿瘤作用。因此,溶瘤病毒与免疫检查点抑制剂、肿瘤浸润淋巴细胞疗法(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)等免疫疗法的联合应用也在广泛开展。目前研究表明,溶瘤病毒不仅能够增加CAR-T细胞的抗肿瘤活性,而且通过传递肿瘤相关抗原或特异性抗原来增强CAR-T细胞对肿瘤的杀伤作用,同时溶瘤病毒还可以帮助CAR-T细胞克服免疫抑制性的肿瘤微环境。两种疗法的联合应用在临床前研究中展现出了良好的疗效和安全性,能够解决CAR-T在实体瘤治疗领域的瓶颈,具有广阔临床转化前景。本文就溶瘤病毒与CAR-T细胞联合治疗实体瘤的药效及相关机制研究展开论述。

**关键词:** 溶瘤病毒; CAR-T细胞; 联合治疗; 实体瘤; 肿瘤微环境

**中图分类号:** R730.5 **文献标志码:** A

## Research progress in the combination of oncolytic virus and CAR-T cell therapy for solid tumors

DUAN Hai-Xiao<sup>1</sup>, CHENG Yi-Ning<sup>1</sup>, WANG Yang<sup>1</sup>, HU Han<sup>1</sup>, LIU Bin-Lei<sup>1,2\*</sup>

(1 Faculty of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;

2 Wuhan Binhui Biotechnology Co., Ltd, Wuhan 436030, China)

**Abstract:** Chimeric antigen receptor modified T cells (CAR-T) therapy belongs to the field of tumor immunotherapy. CAR-T therapy has shown good efficacy in the treatment of hematological malignancies, but there are many challenges in the treatment of solid tumors. In recent years, oncolytic viruses (OVs) have demonstrated promising efficacy in clinical trials for solid tumors such as melanoma and glioma. Oncolytic viruses selectively replicate and kill tumor cells while activating the body's immune system to exert anti-tumor effects. Therefore, combining oncolytic viruses with immune checkpoint inhibitors, TIL, and other immunotherapies is widely carried out. Research indicates that oncolytic viruses can enhance the anti-tumor activity of CAR-T cells by transmitting tumor-related or specific antigens and helping CAR-T cells overcome the immune-suppressive tumor microenvironment. The combination of these two therapies has shown good efficacy and safety in preclinical studies, offering a promising solution to the bottleneck of CAR-T in treating solid tumors. In this article we discuss the efficacy and related mechanisms of oncolytic viruses and CAR-T cell combination therapy for solid tumors.

**Key words:** oncolytic virus; CAR-T cells; combination treatment; solid tumor; tumor microenvironment

收稿日期: 2023-07-01; 修回日期: 2023-08-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(82001758)

\*通信作者: E-mail: liubl@hbut.edu.cn

癌症已经成为一种严重的全球性疾病, 它对人类的健康构成了极大的威胁, 而且发病率正在迅速上升<sup>[1]</sup>。尽管传统的抗癌技术, 如手术、放射治疗、化学药物等, 已经取得了一定的成效, 但其存在潜在风险, 例如术后复发、转移以及对化疗的耐药性<sup>[2]</sup>。1893年, William Coley等发明Coley毒素, 它由化脓性链球菌和黏质沙雷氏菌构成, 可以有效地抑制肿瘤的生长, 其缓解率高达10%, 为免疫治疗带来了全新的机遇。1984年, IL-2的应用取得了成功, 首例患者得以康复, 标志着肿瘤免疫学的一个崭新的里程碑<sup>[3-4]</sup>。此后, 随着肿瘤免疫技术的不断突破, 开发出了诸如检查点抑制剂单克隆抗体<sup>[5]</sup>、淋巴细胞活化因子<sup>[6]</sup>、肿瘤疫苗<sup>[7]</sup>、溶瘤病毒<sup>[8]</sup>、双特异性抗体<sup>[9]</sup>、T细胞过继性免疫疗法<sup>[10]</sup>等策略。由于单一的疗法难以使肿瘤完全消退, 诸如溶瘤病毒联合免疫检查点抑制剂、溶瘤病毒联合CAR-T细胞等治疗方法已然成为一种趋势。

尽管CAR-T细胞在治疗血液系统肿瘤中取得了惊人的效果, 但在治疗实体瘤患者中却没有展现出更好的疗效。因为CAR-T细胞在治疗实体瘤时需要克服许多障碍, 如CAR-T细胞难以浸润到实体瘤组织, 以及浸润后的CAR-T细胞不能持久存在, 同时实体瘤中的免疫抑制性环境也会限制CAR-T细胞的效应功能。溶瘤病毒能在肿瘤细胞中选择性地感染并复制, 其抗肿瘤机制包括直接裂解肿瘤和诱导抗肿瘤过继性免疫, 而且溶瘤病毒经基因改造可以在肿瘤微环境中表达治疗性基因, 从而增强抗肿瘤免疫反应。溶瘤病毒这些特点可能会解决CAR-T细胞疗法的障碍, 目前溶瘤病毒和CAR-T细胞联合治疗实体瘤的临床试验也正在进行。因此, 本综述总结了溶瘤病毒和CAR-T细胞联合治疗的临床进展, 并对两种疗法的机制进行概述。

## 1 CAR-T细胞治疗

### 1.1 CAR-T细胞治疗简介

CAR-T细胞疗法是一种利用基因工程技术, 将抗原受体和T细胞结合在一起, 构建一种特异性的抗肿瘤机制, 以实现精准的抗肿瘤治疗, 并获得理想的治疗结果。该疗法先从患者体内提取T细胞, 并在体外进行培养, 使之达到足够的数量, 再将大规模的CAR-T细胞注入到患者体内, 以便有效地针对肿瘤细胞进行特异性治疗。

在CAR-T细胞治疗兴起之前, T细胞过继性免疫治疗回输的细胞主要是异基因造血干细胞和白

细胞, 此方法经常会引发移植物宿主病, 严重时可导致患者死亡, 为此亟需一种能够特异性识别肿瘤细胞的T细胞来解决脱靶效应<sup>[11]</sup>。T细胞可以通过释放多种有效的抗肿瘤活性物质, 包括颗粒酶、穿孔素、凋亡相关因子(factor related apoptosis, Fas)、凋亡相关因子配体(Fas ligand, FasL)和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand, TRAIL), 从而有效地促进肿瘤细胞的凋亡<sup>[12]</sup>, 因此CAR-T细胞疗法应运而生。

### 1.2 CAR结构

CAR-T细胞中的CAR结构是人工合成的重组跨膜蛋白, 可以靶向细胞表面的抗原, 由以下三部分组成。(1)胞外结合域: 单克隆抗体的单链可变区片段(single chain fragment variable, scFv)在细胞外形成了一个结合域, 用来识别抗原, 不需要同T细胞受体(T cell receptor, TCR)一样去依赖主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)的递呈, 能够有效解决因MHC下调造成肿瘤细胞免疫逃逸的问题<sup>[13]</sup>; 为了解决CAR识别单一的问题, 科研工作者向CAR中融入了多种新的设计, 如可识别肽类、脂质类、聚糖类、磷酸化的抗原以及CAR-T细胞的潜在靶点糖基化RNA<sup>[14]</sup>, 大大增加了CAR识别的广谱性。(2)跨膜结构域: 与铰链区紧密相连, 将scFv牢牢地固定在细胞膜的表面, 其不仅连接胞外的结合域还连接胞内信号域, 最常见的跨膜结构域包括分化簇3 $\zeta$ (cluster of differentiation 3 $\zeta$ , CD3 $\zeta$ )、CD4、CD8、CD28等。(3)胞内信号域: 由T细胞内部的激活信号复合物组成, 该复合物包括信号分子CD3 $\zeta$ 和许多共刺激分子, 如CD27、CD28、OX40(CD134)、4-1BB(CD137)、诱导性共刺激受体(inducible costimulator, ICOS)等; 每一代新的CAR结构都是在胞内结构域上进行基因修饰, 第一代CAR具有scFv和CD3 $\zeta$ 链的信号转导域, 可以有效识别抗原并激活T细胞, 但由于其增殖效率较低, 持久性较弱, 因此治疗肿瘤的效果不佳<sup>[15]</sup>。第二代CAR使用了一系列共刺激分子, 包括CD28、OX40和4-1BB, 它们能够有效激活细胞因子的生成, 并且拥有更高的持久性, 从而提高了CAR-T的治疗效果。第三代CAR拥有更强大的 $\zeta$ 功能, 并且具有CD3 $\zeta$ 和两个共刺激域, 如CD28/ICOS和4-1BB/OX-40, 在T细胞功能和持久性上进一步加强<sup>[16]</sup>。第四代CAR-T(fourth-generation CAR-T cells redirected for universal cytokine killing,

TRUCKs) 是一种新型的细胞治疗方法, 它通过引入活化的 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T-cells, NFAT) 转录元件, 使 CAR-T 细胞能够在肿瘤区域分泌特定的细胞因子, 如 IL-12; 还可以引入 4-1BBL 和 CD40L 等共刺激配体, 可以有效地抑制肿瘤细胞的生长和扩散; 在免疫抑制性的肿瘤微环境中, 通过释放促炎性因子, 激活更多的免疫细胞, 产生更强大的抗肿瘤免疫反应, 从而有效抑制肿瘤的发展和蔓延<sup>[17]</sup>。第四代 CAR 的引入大大降低了患者接受全身照射或大剂量化疗的风险, 有效减少了 CAR-T 细胞的数量, 为临床提供了更多的选择。第五代 CAR 当前还在探索当中, 基于第二代 CAR 加入截断的胞质 IL-2 受体  $\beta$  链结构域, 可以结合信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3), 此受体通过 CD3 $\zeta$  结构域可以同时启动 TCR 抗原特异性激活、CD28 共刺激域和 JAK 激酶信号转导及转录激活因子 3/5 (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription 3/5, JAK-STAT3/5) 信号, 促进 T 细胞的充分活化和增殖<sup>[18]</sup>。

### 1.3 CAR-T细胞疗法抗肿瘤机制

T 淋巴细胞在抵御癌症发展中发挥着至关重要的作用, 这是因为它们能够从抗原肽中提取出多种肽链, 并将其分解成抗原肽-MHC, 这些复合物被 T 淋巴细胞吸收, 最终与抗原肽结合, 形成第一信号通路, 从而发挥抗癌作用。通过 B7 共刺激, T 细胞表面的 CD28 分子被有效地结合, 其被激活后产生 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞, 这种细胞具有抗肿瘤的功能, 因此被称为细胞毒性 T 淋巴细胞<sup>[19]</sup>。TCR 接收到信号之后, CD3、CD3 $\epsilon$  和 CD3 $\delta$  都会被转录至细胞内, 它们都包含一个免疫受体酪氨酸活化基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。ITAM 的磷酸化可以促进下游蛋白的活性, 进而激活 T 细胞。由于早期 CAR 只有三个 ITAM, 且没有共刺激分子, 所以无法实现这一目的。CAR-T 细胞本来只能检测到抗原, 但是由于其缺乏多种改良, 使得它无法有效地增殖<sup>[20]</sup>。为了提高 CAR 的功能, 科学家们对其进行了改造, 如胞内信号的改造, 第一代 CAR 仅有单个 CD3 $\zeta$  信号结构域, 第二和第三代加入共刺激信号分子 CD28、4-1BB/OX40、CD3 $\zeta$  多种信号结构域。这些改造有效增强了 CAR-T 细胞的细胞因子释放和细胞增殖。

### 1.4 CAR-T细胞治疗研究进展

对于 B 细胞表面抗原 CD19 靶点, CD19 CAR-T

细胞在急性 B 淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin lymphoma, NHL) 等癌症的治疗中已经取得了令人瞩目的成果。2017 年 8 月 30 日, 诺华公司 R&D 的第一款 CAR-T 治疗药物 Tisagenlecleucel (商品名 Kymriah) 经美国食品与药物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 审核通过正式上市<sup>[21]</sup>, 这标志着 CAR-T 治疗技术的进一步发展。Kymriah 被证明具有治疗难治性和复发性急性淋巴细胞白血病 (acute lymphocytic leukemia, ALL) 的潜力, 并且具有广阔的应用前景。CAR-T 细胞技术已经在治疗 NHL 上取得了巨大进展, 但仅依靠单一靶点的治疗仍有可能导致病情复发。因此, 韩为东教授团队开发出 TanCAR7-T 细胞, 将 CD19 scFv 和 CD20 scFv 连接起来, 构建了一种串联式 CAR 结构, 不仅有效地覆盖了肿瘤双靶点, 且建立起稳固的免疫突触结构, 同时提高了 CAR-T 细胞的功能性和稳定性<sup>[22]</sup>。

CAR-T 细胞在体内存在时间短、易耗竭, 导致肿瘤难消除和易复发。如何解决 CAR-T 细胞功能耗竭是实体肿瘤 CAR-T 治疗中的热点与难点。CAR 在识别特异性肿瘤抗原的过程中会持续给 T 细胞刺激信号, 这种持续刺激信号导致 CAR-T 细胞功能耗竭。因此, 了解此信号的形成和机制可能有助于设计出功能持久、抗耗竭的 CAR-T 细胞。Chen 等<sup>[23]</sup>通过实验证明 CAR 胞外区域表面存在较多的带正电荷的斑块 (positively charged patches, PCP), 并且证实 PCP 介导的静电作用会影响 CAR-T 细胞刺激信号的形成。因此, 可通过调控此信号强度来优化 CAR: 在体外 CAR-T 扩增期间提高培养基中的离子浓度, 或通过突变减少 CAR 表面的 PCP 数量, 经过优化的 CAR-T 细胞的刺激信号强度显著减少, 且 PCP 的突变不影响 CAR 的抗原结合亲和力和特异性。因此, 合理调整 PCP 以优化 CAR-T 细胞的信号转导和体内适应性是下一代 CAR 的一种有前途的设计策略。

在某些情况下, 即使未表达 CAR-T 细胞的靶抗原, 若正常组织细胞的表面标记与靶抗原存在结构或序列的部分相同, CAR-T 也可能通过交叉反应机制损伤正常组织, 实体瘤中靶抗原和 CAR-T 细胞中 CAR 的表达水平也决定了 CAR-T 细胞的治疗效果。Anikeeva 等<sup>[24]</sup>改造 CAR 序列 scFv 的区域, 从而可以识别黑色素瘤细胞表面的高分子量黑色素瘤相关抗原 (high-molecular weight melanoma associated-antigen, HMW-MAA); 该研究评估了 CAR-T 细胞对组织来源的黑色瘤细胞的杀伤能力, 结果显示

CAR-T 细胞有效地清除了表达高水平 HMW-MAA 的黑色素瘤细胞, 但没有清除那些 HMW-MAA 水平较低的黑色素瘤细胞。因此, 检测靶抗原的丰度从而设计不同的 CAR 序列也是至关重要的。通过不断对 CAR 序列 scFv 区域的优化改良已经使 CAR-T 细胞越来越精准、快速、高效地治疗肿瘤, 且有可能成为一种治愈新型肿瘤的免疫治疗方法。

### 1.5 CAR-T与实体瘤

尽管 CAR-T 细胞在治疗恶性血液瘤中展现了积极的进展, 但是在实体瘤的战场上却没有实质性的突破, 究其原因, 有以下几点因素影响 CAR-T 细胞在实体瘤中发挥作用: 首先, 实体瘤表面特异性肿瘤抗原多样且表达不均一, 对 CAR-T 细胞的特异性识别杀伤功能造成很大的障碍, 且容易造成肿瘤逃逸<sup>[25-26]</sup>, 如三阴性乳腺癌和肺癌中缺少易控制的肿瘤抗原<sup>[27]</sup>; 其次, 回输的 CAR-T 细胞要经过体内血液循环, 难以浸润到致密的细胞基质中, 容易造成 CAR-T 细胞的损耗; 再者, 与血液瘤相比, 实体瘤中存在免疫抑制性的肿瘤微环境 (tumor-microenvironment, TME), 该环境能够抑制 CAR-T 细胞在其中发挥免疫功能<sup>[28]</sup>; 最后, 尽管 CAR-T 能够到达实体瘤并浸润渗透, 但是在识别特异性肿瘤抗原时容易产生 CAR 蛋白的泛素化降解, 造成 CAR-T 细胞激活时间短、耗竭快, 抗肿瘤效果不尽如人意<sup>[29]</sup>。

多年来, 各种临床前和临床研究都聚焦于一些典型的靶点, 如胚癌抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA)、双唾液酸神经节苷脂 (disialoganglioside, GD2)、间皮素 (mesothelin, MSLN)、人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR), 以及其他的肿瘤抗原如成纤维细胞活化蛋白  $\alpha$  (fibroblast activation protein alpha, FAP)、白细胞介素 13 受体  $\alpha 2$  (interleukin 13 receptor alpha 2, IL13R $\alpha 2$ )、黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1)、前列腺干细胞抗原 (prostate stem cell antigen, PSCA) 和前列腺特异性膜抗原 (prostate specific membrane antigen, PSMA)<sup>[30]</sup>。表 1 汇总了当前临床中 CAR-T 治疗实体瘤的靶点<sup>[31-59]</sup>。

## 2 溶瘤病毒疗法(oncolytic virotherapy, OV)

### 2.1 溶瘤病毒简介

传统治疗癌症的方法如放疗和化疗, 其副作用明显; 而生物治疗虽然相对复杂, 但是疗效好、

副作用小, 可以减轻患者痛苦。在过去 20 年, 生物疗法中的溶瘤病毒疗法在癌症治疗领域展现了优异的疗效<sup>[60]</sup>。最早该疗法的出现是源于癌症患者身上感染了某种病毒, 之后癌细胞会慢慢消退<sup>[61]</sup>。已有文献报道, 血液病、淋巴瘤等疾病患者在感染乙型肝炎、水痘和麻疹病毒后, 可能会出现明显的症状减轻, 从而缓解病情的发展<sup>[62]</sup>。随着基因工程技术的进步, DNA 重组技术成为改造病毒的常用手段, 对溶瘤病毒进行有目的的改造也成为一种趋势, 使其具有靶向杀伤肿瘤细胞的能力。因此, 新型溶瘤病毒经过基因改造, 使它能够在肿瘤细胞内复制, 但不会对正常细胞产生毒性作用<sup>[63]</sup>。当前数十种溶瘤病毒在被广泛地应用于各种肿瘤治疗中。(1) 腺病毒 (adenovirus, Ad)。在 2005 年, 腺病毒 H101 作为第一款治疗头颈癌的溶瘤病毒药物被批准在中国上市<sup>[64]</sup>, 腺病毒是一种双链 DNA 病毒, 已经被广泛应用于科研和临床中。与其他血清型相比, 血清型 Ad5 的安全性相对提高, 因此已被广泛使用, 并被认为是基因治疗的病毒载体和溶瘤病毒治疗剂<sup>[65]</sup>。(2) I 型单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus type 1, HSV-1)。在 2015 年, Talimogene laherparepvec (T-VEC) 作为首款单纯疱疹溶瘤病毒在美国 FDA 获批上市, 商品名为 Imlygic, 用于治疗黑色素瘤<sup>[66]</sup>。T-VEC 通过基因工程技术敲除 HSV-1 中的 ICP34.5 和 ICP47 两个基因, 并在 ICP34.5 区域插入表达人源粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (human granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF), 通过病毒裂解功能增强固有的抗肿瘤免疫刺激<sup>[67]</sup>。(3) 牛痘病毒 (vaccinia virus, VV)。在溶瘤病毒的临床研究中, 牛痘病毒也是最常见的病毒之一, 作为天花疫苗, 人们对该病毒了解较为广泛<sup>[68]</sup>。牛痘病毒有较强的肿瘤裂解能力, 能够感染一系列肿瘤, 因此可以作为一种载体并且独立地用于溶瘤病毒治疗研究, 但是其临床响应率低, 且在牛痘病毒相关的脑炎治疗中存在安全隐患, 因此, 在改造牛痘病毒过程中需要着重考虑其安全性和有效性。此外, 还有呼肠弧病毒 (Reovirus) 和新城疫病毒 (Newcastle disease virus, NDV) 等。

### 2.2 溶瘤病毒抗肿瘤机制

溶瘤病毒感染肿瘤细胞, 首先会与肿瘤细胞表面的受体结合进入细胞, 利用细胞工厂提供的原料在细胞内部进行复制和繁殖, 直到将宿主细胞裂解后释放出大量的病毒颗粒, 这些增殖后的子代病毒又会感染新的肿瘤细胞, 不断循环上述感染、复制、

表1 临床中CAR-T治疗实体瘤靶点汇总

抗原靶点	瘤种	临床阶段	临床试验登记号	参考文献
B7-H3	中枢神经系统肿瘤	I	NCT04185038	[31]
	胶质母细胞瘤	I/II	NCT04385173	[32]
CEA	肝转移瘤	I	NCT01373047	[33]
	腹腔转移瘤	I	NCT03682744	[34]
EGFRvIII	脑癌、胶质母细胞瘤	I/II	NCT01454596	[35]
	脑癌、胶质母细胞瘤	I	NCT03726515	[36]
GD2	弥漫性中线胶质瘤	I	NCT04196413	[37]
	高级别胶质瘤	I	NCT04099797	[38]
	神经母细胞瘤	I	NCT01822652	[39]
GPC3	肝细胞癌	I	NCT03198546	[40]
HER2	中枢神经系统转移瘤	I	NCT03696030	[41]
	胶质母细胞瘤	I	NCT01109095	[42]
	肉瘤	I	NCT00902044	[43]
	卵巢癌	I	NCT02442297	[34]
Mesothelin	恶性胸膜间皮瘤、前列腺癌、上皮性卵巢癌	I	NCT02159716	[44]
	恶性胸膜疾病	I/II	NCT02414269	[45]
	胰腺导管腺癌	I	NCT01897415	[46]
	胃肠道癌	I	NCT03323944	[47]
	卵巢癌	I	NCT02792114	[48]
	食管癌	I/II	NCT03706326	[49]
MUC1	乳腺癌	I	NCT04020575	[50]
	非小细胞癌	I/II	NCT03525782	[51]
	转移性去势抵抗性前列腺癌	I	NCT03873805	[52]
PSCA	胃肠道癌	I	NCT02744287	[53]
	转移性去势抵抗性前列腺癌	I	NCT04249947	[46]
PSMA	前列腺癌	I	NCT03089203	[54]
	脑癌、胶质母细胞瘤	I	NCT02208362	[55]
IL13R $\alpha$ 2	胃肠道癌	I	NCT03159819	[56]
Claudin 18.2	卵巢癌	I	NCT03585764	[57]
FR- $\alpha$	卵巢癌	I	NCT02498912	[58]
MUC16	肝癌	I	NCT02541370	[59]
CD133	三阴性乳腺癌	I	NCT02706392	[57]

裂解过程，直到最后肿瘤细胞被全部消灭，病毒才会被免疫系统清除<sup>[67]</sup>。

溶瘤病毒感染机制有以下三个特点。(1)病毒进入细胞，可以被病毒特异性受体介导，或者利用肿瘤细胞自身调节抗病毒免疫信号通路缺陷的特点，使溶瘤病毒在肿瘤细胞中存在更长时间<sup>[70]</sup>。(2)一旦溶瘤病毒成功进入肿瘤细胞，快速的细胞分裂和高度的代谢活性将会成为溶瘤病毒复制的理想环境；随后，病毒感染的裂解循环将会在肿瘤细胞之间不断开启，这将会导致肿瘤微环境中其他邻近的细胞成为溶瘤病毒的靶细胞，如癌症相关成纤维细胞、血管内皮细胞、周皮细胞等肿瘤基质细胞，对肿瘤微环境周边细胞复杂的相互作用的干扰，有利

于抑制肿瘤细胞生长和存活。(3)病毒在肿瘤细胞中的复制和对邻近肿瘤细胞的杀伤可以诱导抗肿瘤先天免疫和适应性免疫<sup>[71]</sup>，免疫抑制性的肿瘤微环境使抗原递呈细胞功能被破坏，肿瘤相关抗原不能被有效递呈；同时，肿瘤内部固有的 $\beta$ -catenin致癌信号通路会抑制抗原递呈细胞在肿瘤中的募集<sup>[72]</sup>。一旦溶瘤病毒感染肿瘤细胞，损伤相关分子模式 (damage associated molecular patterns, DAMPs) 和病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 因子就会释放，它们可以改变抑制性肿瘤微环境，形成一个有利于抗肿瘤免疫的环境，从而有效地抑制肿瘤发展。DAMPs 和 PAMPs 的结合可以激活 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR)，

从而促进先天性免疫反应的发生。

### 3 溶瘤病毒与CAR-T联合治疗

#### 3.1 溶瘤病毒联合治疗简介

溶瘤病毒在多种临床试验中虽然展现了不同的治疗效果, 但是致使肿瘤完全消退的案例却很少报道。基于以上溶瘤病毒的抗肿瘤机制, 溶瘤病毒可以诱导 T 细胞浸润、激活局部免疫和对抗肿瘤微环境中肿瘤介导的免疫逃逸。因此, 溶瘤病毒可以作为一个治疗平台与其他生物疗法联用<sup>[73]</sup>。临床前研究证明联合治疗能够提升疗效, 溶瘤病毒作为一个联用的平台, 可以和如下的肿瘤治疗方法联合, 包括细胞毒性化疗<sup>[74]</sup>、放疗<sup>[75]</sup>、分子靶向药物<sup>[76]</sup>、过继性 T 细胞治疗<sup>[77]</sup>和免疫检查点抑制剂<sup>[78]</sup>。其中, 免疫检查点抑制剂在治疗多种实体瘤中成效显著, 且能引起更为迅速和持久的 T 细胞反应。然而, 肿瘤微环境中多种因素会阻碍 T 细胞的功能, 如肿瘤细胞表达程序性死亡配体 1 (programmed cell death ligand-1, PD-L1) 逃避 T 细胞反应, 而 CAR-T 细胞被激活后产生的干扰素  $\gamma$  (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ ) 会进一步促进 PD-L1 的表达。当表达 PD-L1 抗体或细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) 抗体的溶瘤病毒与 CAR-T 细胞联用时, 可能会增强 CAR-T 细胞的治疗效果。Tanoue 等<sup>[79]</sup>构建表达 PD-L1 抗体的溶瘤腺病毒 HDPDL1, 与靶向人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2) 的 CAR-T 联合治疗前列腺癌荷瘤小鼠模型, 结果表明 HDPDL1 通过瘤内阻断 PD-1/PD-L1 抑制通路增强了 CAR-T 细胞的功能。复杂的肿瘤微环境还通过

T 细胞表面受体, 如 CTLA-4 阻碍 T 细胞的功能。经 FDA 批准的一种靶向 CTLA-4 单克隆抗体和靶向 PD-1 抗体目前在治疗黑色素瘤, 这提示使用溶瘤病毒表达 CTLA-4 抗体可能会提升 CAR-T 细胞的治疗效果。Engeland 等<sup>[80]</sup>构建表达抗 CTLA-4 和抗 PD-L1 的溶瘤麻疹病毒 MV-aCTLA-4 and MV-aPD-L1, 在治疗黑色素瘤的免疫健全小鼠模型中, 两种病毒分别展现了比亲本病毒更加优异的抑瘤效果。MV-aCTLA-4 and MV-aPD-L1 治疗后, 瘤内的 CD3<sup>+</sup> T 显著增加且叉头框蛋白 P3 (forkhead box P3, FoxP3<sup>+</sup>) 调节性 T 细胞减少。目前虽没有表达抗 CTLA-4 的溶瘤病毒与 CAR-T 细胞联合治疗的案例, 但是这种治疗策略值得去探索。

#### 3.2 溶瘤病毒联合CAR-T细胞治疗研究进展

到目前为止, 无论是体内还是体外试验均已表明溶瘤病毒和 CAR-T 细胞协同效应的存在, 特别是在治疗实体瘤方面, 众多临床前试验已经开展 (表 2)。以上提及的溶瘤病毒和 CAR-T 细胞对肿瘤细胞的杀伤机制是互补的, 溶瘤病毒可以增强 CAR-T 细胞在实体瘤中的浸润和活性, 同时 CAR-T 细胞可以提升溶瘤病毒介导的溶瘤性。

#### 3.3 溶瘤病毒联合CAR-T细胞治疗机制

CAR-T 细胞在治疗实体瘤中存在许多局限性, 因为肿瘤异质性导致 CAR-T 细胞在单独治疗时不能发挥出色的功能, 加之肿瘤环境是动态的, 而溶瘤病毒治疗过程中克服肿瘤微环境的特点, 使得其与 CAR-T 细胞联合治疗成为可能, 目前两者协同治疗的热点主要集中在以下几个方面。

##### 3.3.1 溶瘤病毒介导的肿瘤相关抗原的传递

实体瘤细胞表面肿瘤相关抗原分布不均一, 抗

表2 溶瘤病毒与CAR-T细胞联合临床前研究汇总

溶瘤病毒	病毒种类	病毒改造方式	CAR-T靶标	治疗瘤种	参考文献
OAV-DEC	腺病毒	OV插入蛋白多糖	碳酸酐酶	肾癌	[81]
Onc.Ad-Rantes/IL-15	腺病毒	OV插入细胞因子	GD2	神经母细胞瘤	[82]
EphA2-TEA-VV	痘苗病毒	OV表达BiTE	人类表皮生长因子2 (HER2)	肺癌	[83]
CAdVECIL12p70/ $\alpha$ PDL1	腺病毒	OV插入阻断抗体	人类表皮生长因子2 (HER2)	头颈部鳞状细胞癌	[84]
CAdVEC- $\alpha$ PDL1	腺病毒	OV插入阻断抗体	人类表皮生长因子2 (HER2)	前列腺癌、鳞状细胞癌	[79]
Onc.Ad-EGFR BiTE	腺病毒	OV表达BiTE	叶酸受体 $\alpha$ (FR- $\alpha$ )	胰腺导管癌/结直肠癌	[85]
Onc.Ad-TNF $\alpha$ /IL-2	腺病毒	OV插入细胞因子	间皮素(MESO)	胰腺导管癌	[86]
VV.CXCL-11	痘苗病毒	OV插入趋化因子	间皮素(MESO)	肺癌	[87]
CAdTri	腺病毒	OV表达BiTE	人类表皮生长因子2 (HER2)	胰腺导管腺癌/鳞状细胞癌	[88]
rAd.sT	腺病毒	OV插入sTGF $\beta$ RIIFc	间皮素(MESO)	乳腺癌	[89]
mCD19VV	痘苗病毒	OV传递靶标抗原	CD19	黑色素瘤	[90]
AdC68-TMC-tCD19	腺病毒	OV传递靶标抗原	CD19	肝癌	[91]

原表达易下调, 导致肿瘤免疫逃逸, 这提示尽管实体瘤表达肿瘤相关抗原, 但 CAR-T 细胞治疗时靶细胞抗原表达量不足会导致无效的治疗, 这也是 CAR-T 治疗后癌症复发的原因之一<sup>[92]</sup>, 而且特异性肿瘤表面抗原的缺失仍然是一个巨大的难题<sup>[93]</sup>。因此, 为了解决这一问题, 溶瘤病毒介导的肿瘤选择性表面抗原的传递这一方法被引入。Park 等<sup>[94]</sup>将截短的 CD19 (truncated CD19, *CD19t*) 基因序列插入到溶瘤痘病毒中, 改造后的溶瘤痘病毒与特异性识别 CD19 抗原的 CAR-T 细胞联合治疗多种荷瘤小鼠模型, 均展现出良好的疗效; 且该溶瘤病毒通过增强内源和外源 CAR-T 细胞的浸润能力来诱导局部免疫。同时, CAR-T 细胞介导的肿瘤杀伤也会促使垂死的肿瘤细胞释放溶瘤病毒, 两者协同作用达到加速消灭实体瘤的目的。痘病毒表达 CD19t 这种构建策略是使溶瘤病毒在裂解肿瘤细胞前就将 CD19t 表达在细胞表面, 编码 *CD19t* 基因的痘病毒在感染肿瘤细胞后, 肿瘤细胞表面会迅速表达 CD19t, CAR-T 细胞识别后分泌细胞因子并展现出强大的裂解杀伤能力。

类似地, Liu 等<sup>[95]</sup>构建表达 CD19 和 B 细胞表面成熟抗原 (B-cell maturation antigen, BCMA) 胞外域双抗原以及趋化因子配体 5 (C-C motif ligand 5, CCL5) 的单纯疱疹病毒 T7011, T7011 感染肿瘤细胞后可以检测到 CD19 和 BCMA 的表达, 在肿瘤微环境中 CCL5 的表达也有所增加。在人食管癌荷瘤小鼠模型中, T7011 和 CD19 CAR-T 细胞联合治疗展现出比单药组更好的治疗效果; 同时 T7011 和 BCMA CAR-T 细胞联合治疗在实体瘤模型中也表现出非常显著的治疗效果。

Aalipour 等<sup>[90]</sup>构建表达 CD19 的胸苷激酶缺陷的牛痘病毒, 在免疫健全的 B16R 荷瘤小鼠模型中, 与特异性识别 CD19 抗原的 CAR-T 细胞联合治疗实体瘤。与未携带 CD19 抗原的牛痘病毒组相比, 携带 CD19 抗原的牛痘病毒与 CD19 CAR-T 联合治疗效果显著, 且延长了小鼠的生存期。同时, 对于表达量低的同种抗原, 经过牛痘病毒传递 CD19 抗原也能够提升 CD19 CAR-T 的抗肿瘤活性, 表明这种策略有可能应对低表达抗原的肿瘤逃逸。

Tang 等<sup>[91]</sup>构建表达 CD19 的腺病毒 AdC68-TMC-tCD19, 此腺病毒系统可以使多种肿瘤细胞表达 CD19 抗原, 并在 CAR-T 细胞和肿瘤细胞之间形成免疫突触, AdC68-TMC-tCD19 与 CD19 CAR-T 细胞联合治疗显著延长肝癌荷瘤小鼠的生存期, 并

且消除了肿瘤。

通过溶瘤病毒表达肿瘤相关抗原, 以此来增强 CAR-T 细胞杀伤肿瘤的活性, 此法也有一定的局限性: 如表达 CD19t 的牛痘病毒会引起抗体介导的病毒清除, 导致该病毒不能在瘤内持久存在, 从而影响联用的治疗效果; 而溶瘤病毒治疗后的免疫原性的问题也是限制该疗法的一个因素。因为 B 细胞表面表达丰富的 CD19 抗原, CD19 CAR-T 细胞输入后识别 CD19 抗原后, 引起 B 细胞的耗竭, B 细胞的减少在一定程度上也会减少抗病毒抗体的存在, 从而减弱抗体对病毒的清除能力, 可以以此来提升病毒持续发挥功能的时间, 同时缓解免疫原性的问题。另一个限制因素是, 表达 CD19t 的牛痘病毒可能会感染正常细胞, 尽管正常细胞中残留的病毒较少, 但是正常细胞表达 CD19t 并不是我们想要的结果。溶瘤病毒在杀伤肿瘤细胞前需要先感染肿瘤细胞, 肿瘤细胞表面受体是溶瘤病毒结合和进入的必要因素之一。一些胞外分子如 CD46、CD155 和整合素  $\alpha 2\beta 1$  一般过表达在多种肿瘤细胞表面, 可以分别作为麻疹病毒、脊髓灰质炎病毒和埃科病毒感染的受体, 同样的溶瘤病毒感染不同的肿瘤细胞可能需要不同的细胞表面受体, 例如麻疹病毒通过 CD46 进入骨髓瘤细胞, 同时通过细胞黏附分子 4 (nectin cell adhesion molecule 4, nectin-4) 进入胰腺癌、结直肠癌、乳腺癌细胞<sup>[96]</sup>。如果肿瘤细胞表面没有该溶瘤病毒进入的受体, 这也可能会成为联合 CAR-T 细胞治疗的限制因素。因此, 探索不同肿瘤细胞表面高表达的病毒感染受体以及 CAR-T 细胞识别的肿瘤特异性抗原也是十分必要的。如果肿瘤细胞表面低表达肿瘤特异性抗原, 则需要寻找适合感染该肿瘤细胞的溶瘤病毒, 通过肿瘤特异性靶抗原的递送来增强 CAR-T 细胞的杀伤作用。最后, 对于如何能更好地提升疗效的问题, 设计溶瘤病毒和 CD19 CAR-T 细胞的给药时间间隔或者不同序贯给药的方式, 可能是下一步需要试验的重点。

### 3.3.2 溶瘤病毒通过表达趋化因子促进 CAR-T 细胞的浸润

多种细胞因子、趋化因子和黏附分子可以吸引内源性细胞毒性 T 淋巴细胞进入到肿瘤微环境, 尤其是多种趋化因子在招募 T 细胞过程中成为了不可或缺的角色, 如 CXCL9、CXCL10、CCL5、CCL21 等的表达不仅与肿瘤中的 T 细胞浸润相关, 而且在延长癌症患者的存活期方面也有重要作用<sup>[97]</sup>。如果溶瘤病毒表达趋化基因并传递趋化因子招募 CAR-T

细胞, 有可能使 CAR-T 细胞克服不能到达肿瘤微环境的障碍<sup>[98]</sup>。针对实体瘤阻碍 CAR-T 细胞浸润以及肿瘤微环境高度免疫抑制的问题, Wang 等<sup>[99]</sup>改造表达趋化因子配体 11 (C-X-C motif ligand 11, CXCL11) 的重组溶瘤腺病毒, 与靶向 B7-H3 (CD276) 抗原的 CAR-T 细胞联合治疗胶质母细胞瘤, 无论是在免疫缺陷还是免疫健全小鼠模型中均展现出优异的疗效。在这项研究中, CXCR3 无论是在人源 T 细胞还是在鼠源 T 细胞中都有高度的表达, 在 CAR-T 细胞中比 T 细胞表达更多, 且 CXCL11 是 CXCR3 的理想配体。因此, 将溶瘤腺病毒作为载体, 构建表达 CXCL11 的重组溶瘤腺病毒与靶向 B7-H3 抗原的 CAR-T 细胞联合治疗比改造前的病毒更能促进 CAR-T 细胞的迁移和浸润。不仅如此, 改造后的病毒显著增加了自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK)、CD45<sup>+</sup> 淋巴细胞、CD3<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的浸润; 更有趣的是, 此病毒还显著降低了髓细胞来源抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) 和调节性 T 细胞的比例, 这意味着将免疫抑制的肿瘤微环境向更加有利的免疫刺激状态转变。Fang 等<sup>[100]</sup>构建了携带 CCL5 和白介素 12 (interleukin-12, IL-12) 基因的溶瘤腺病毒 Ad5-ZD55-hCCL5-hIL12, 此病毒能够在肾癌细胞中感染和复制。将 Ad5-ZD55-hCCL5-hIL12 与靶向碳酸酐酶 9 (carbonic anhydrase 9, CA9) 的 CAR-T 细胞联合治疗, 无论是在免疫缺陷还是免疫健全的荷瘤小鼠模型中, 均能抑制肿瘤生长且延长了小鼠生存期。Moon 等<sup>[87]</sup>使用两种构建策略招募更多的免疫细胞: 第一种方法将 CXCL11 基因与 CAR 序列连接, 通过转导人源 T 细胞制备靶向间皮素且表达 CXCL11 的 CAR-T 细胞 (CAR/CXCL11); 第二种方法是构建一种表达 CXCL11 的牛痘病毒 (VV.CXCL11), 通过与靶向间皮素的 CAR-T 细胞联合治疗肿瘤。结果显示, 两种方法都增加了 CXCL11 蛋白在瘤内的表达, 但是 CAR/CXCL11 细胞注射后并没有增加 CAR-T 细胞的浸润, 且影响到了 CAR-T 细胞功能。相反, VV.CXCL11 注射后增加了瘤内特异性抗原 T 细胞的总数量, 且与 CAR-T 细胞联合后增强了抗肿瘤效果。因此, 表达 CXCL11 的牛痘病毒成功招募了 T 细胞。

### 3.3.3 溶瘤病毒减弱 MDSC 对 CAR-T 细胞功能的抑制作用

在黑色素瘤以及几乎所有类型的癌症中都出现了 MDSC 的扩增, 且这一现象与疾病进展、生存

率降低以及免疫不良反应相关<sup>[101-102]</sup>。MDSC 是一类异质的未成熟髓细胞, 扩增后能够被招募到肿瘤附近, 从而帮助实体瘤实现免疫逃逸。有研究报道经过基因修饰的溶瘤病毒通过表达某种酶 (如 15 羟基前列腺素脱氢酶, 一种前列腺素失活酶) 会造成 MDSC 的耗竭<sup>[103]</sup>。针对实体瘤免疫微环境中 MDSCs 对 CAR-T 细胞的抑制, 在 II 期临床试验中, Kaufman 等<sup>[104]</sup>在瘤内注射编码粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 的单纯疱疹病毒 Oncovex<sup>GM-CSF</sup>, 发现其可以显著改善转移性黑色素瘤的症状; 与未注射部位相比, 患者外周血中的 MDSC 显著减少。Zhang 等<sup>[105]</sup>在 oHSV2 治疗小鼠结肠癌实体瘤模型研究中, 使用流式细胞术检测 oHSV2 注射后脾脏中不同免疫细胞的比例, 发现与对照组相比, oHSV2 治疗组的 MDSC 比例显著降低, 其他的免疫抑制细胞如 Tregs 也有所减少。因此, 溶瘤病毒可能通过抑制 MDSC 来减弱 MDSC 对 CAR-T 的抑制作用。而 MDSC 表达的精氨酸酶 I、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 能够抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞的激活<sup>[106]</sup>, 直接影响 CAR-T 细胞的杀伤功能, 同时 MDSC 在调节性 T 细胞的增殖过程中也扮演着重要角色<sup>[107]</sup>。因此溶瘤病毒抑制 MDSC 对于促进 CAR-T 细胞治疗实体瘤有积极意义。不仅如此, 溶瘤病毒瘤内注射也能够减少实体瘤中调节性 T 细胞和抑制性 T 细胞的数量, 在联合 CAR-T 细胞治疗中展现出更好的治疗效果。

### 3.3.4 溶瘤病毒介导的局部炎症反应

效应 T 细胞被激活需要接受 TCR、共刺激分子和促炎症细胞因子三个信号的刺激。目前二代以上的 CAR-T 细胞大都包含前两种信号, 通常在体外培养 CAR-T 细胞时会额外加入细胞因子, 如 IL-2、IL-7 和 IL-15 来满足第三种信号, 这必然会重塑 CAR-T 细胞的功能, 使 CAR-T 细胞不仅自身产生细胞因子, 而且还能传递一系列细胞因子辅助过继细胞治疗<sup>[108]</sup>。I 型干扰素 (interferon-I, IFN-I) 可以作为一个关键的细胞因子信号增强效应 T 细胞的杀伤功能、克隆增殖能力及其向记忆性 T 细胞的分化能力, 在病毒感染的同时作为 CD8<sup>+</sup> T 的第三信号, 促进 T 细胞的累积和效应功能<sup>[109]</sup>。在正常细胞中, 各种信号通路执行对致病性病毒颗粒的检测和清除, 这些通路可能会被局部的 IFN 释放激活。例如, 蛋白激酶 R (protein kinase R, PKR) 是一种胞内的蛋白激酶, 可以识别双链 RNA 和其他病毒因子, 当 PKR 被病毒因子激活后, PKR 会终止细胞



蛋白质合成并促进细胞快速死亡和病毒清除。但是在肿瘤细胞中, IFN 信号通路和 PKR 活性可能是异常的, 对病毒的清除也会被阻止<sup>[110]</sup>。

溶瘤病毒通过增强肿瘤微环境中 IFN-I 的产生来介导抗肿瘤反应。其中, 属于 IFN-I 的 IFN- $\beta$  被报道能够促进树突状细胞介导的抗原交叉提呈并且通过抑制调节性 T 细胞和 MDSC 的激活来破坏肿瘤微环境<sup>[111]</sup>。简而言之, 通过 IFN-I 的产生和将肿瘤微环境从“冷”到“热”的逆转可间接认为是溶瘤病毒促进了 CAR-T 细胞的浸润、刺激和增殖<sup>[112]</sup>。

除了 IFN-I 以外, II 型 IFN 如 IFN- $\gamma$  在肿瘤微环境中的上调对于溶瘤病毒和 CAR-T 细胞联合治疗也是一种有利的因素。Zhang 等<sup>[81]</sup>将表达核心蛋白聚糖的溶瘤腺病毒 (OAV-Decorin, OAV-DEC) 与靶向碳酸酐酶的 CAR-T (carbonic anhydrase IX CAR-T, CAIX-CAR-T) 细胞联合治疗肾癌。瘤内注射的溶瘤腺病毒激活了免疫健全小鼠的炎症免疫状态并导致肿瘤消退, 且使 IFN- $\gamma$  在肿瘤组织中的分泌显著上调。溶瘤病毒与 CAR-T 细胞联合治疗比单独用药有更好的疗效, 其中的联用机制也值得深入探索。在此联合治疗实验中, 在肿瘤组织中检测到转化生长因子 - $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 的下调, 此外在 OAV-DEC 给药组的肿瘤组织中检测到 CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup> 免疫细胞、CD4<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞数量明显比对照组多, 这提示 OAV-DEC 介导的瘤内分泌物如 IFN- $\gamma$  促进了肿瘤微环境的炎症反应。

细胞因子是肿瘤微环境中细胞通讯的关键介质, 如 IL-2、IFN- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  可导致肿瘤微环境中的肿瘤免疫应答。IL-12 和 IL-18 也是有效的抗肿瘤细胞因子。IL-12 直接作用于 NK 细胞、T 细胞上的 IL-12R $\beta$  受体, 诱导机体产生 IFN- $\gamma$ , 促进 1 型辅助性 T 细胞 (T helper type 1, Th1) 的分化, 并且增强细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTLs) 的杀伤能力。IL-18 可以诱导 IFN- $\gamma$  的产生从而增强抗肿瘤免疫反应和增强免疫细胞的毒性, 还可以刺激 T 细胞和 NK 细胞的增殖。Choi 等<sup>[113]</sup>构建了可以表达 IL-12 和 IL-18 的溶瘤腺病毒 RdB/IL-12/IL-18, 在 B16-F10 荷瘤小鼠模型中瘤内注射 RdB/IL-12/IL-18 后, 抗肿瘤效果得到显著提升, Th1 和 Th2 的比例以及 IL-12、IL-18、IFN- $\gamma$  和 GM-CSF 的表达水平也有显著提升。与之相对应, 肿瘤出现明显的坏死, NK 细胞、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞有明显的浸润。更重要的是, RdB/IL-12/IL-18 治疗组中表达 IL-12R $\beta$ 2 或 IL-18R $\alpha$  的 T 细胞数量明显增多。

表达细胞因子的溶瘤病毒与 CAR-T 细胞联合治疗有协同作用。Watanabe 等<sup>[87]</sup>构建表达 TNF $\alpha$  和 IL-2 的溶瘤腺病毒 OAd-TNF $\alpha$ -IL2, 与靶向间皮素的 CAR-T 联合治疗胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA) 的荷瘤小鼠, 结果显示 OAd-TNF $\alpha$ -IL2 和 CAR-T 细胞联合治疗组的肿瘤抑制效果显著, 且没有出现小鼠死亡现象; 更重要的是, 癌细胞的转移得到抑制。此项实验还观察到联合治疗与巨噬细胞向 M1 型亚群极化的现象有关, 如促进树突状细胞的成熟, 通过 TNF $\alpha$  的诱导分泌趋化因子如 CXCL-10、CCL-2 和 CCL-5, 以此招募 CAR-T 细胞。Arnold 等<sup>[114]</sup>研究发现, TNF $\alpha$  可诱导巨噬细胞向 M1 型极化, 极化后的巨噬细胞可分泌大量促炎细胞因子如 IL-12、IL-6、IFN- $\gamma$  和趋化因子, 参与急性炎症反应, 清除入侵的病原微生物和肿瘤细胞。因此, 通过溶瘤病毒表达细胞因子的方式来改善肿瘤微环境并招募 CAR-T 细胞, 也可能是此联合治疗的机制。

#### 4 总结与展望

综上所述, CAR-T 细胞难以治疗实体瘤可以归结为肿瘤逃逸和免疫抑制性肿瘤微环境的限制。肿瘤免疫逃逸是由于抗原表达缺失或异质性导致, 当再次输入同样的 CAR-T 细胞后疗效较差。免疫抑制性的肿瘤微环境影响着 CAR-T 细胞的浸润和效应功能。针对这两大限制因素, 可以通过基因工程的方法改造溶瘤病毒, 插入外源基因来增强溶瘤病毒的功能, 同时可以改善实体瘤中免疫抑制性的肿瘤微环境, 如使溶瘤病毒表达 CAR-T 细胞的靶抗原、趋化因子、细胞因子、免疫检查点抑制抗体等。改造后的溶瘤病毒在瘤内给药的情况下可以传输大量的溶瘤病毒到达肿瘤部位, 其和 CAR-T 细胞联用可以引起局部抗肿瘤反应并阻止肿瘤逃逸。表达促炎因子和趋化因子可以增强 CAR-T 细胞的效应和浸润, 局部引起趋化因子的上调可以招募 CAR-T 细胞以及其他免疫细胞, 使“冷”肿瘤转变为“热”肿瘤。

溶瘤病毒和 CAR-T 细胞联合治疗实体瘤已然成为一种趋势, 但要探索出一条科学且合理的联用之路, 还需要攻克更多的难点。首先, 溶瘤病毒和 CAR-T 细胞联合如何实现“1+1 > 2”的效果是联合治疗的关键。CAR-T 细胞在实体瘤中被许多因素限制其功能和持久性, 除了前文提到的改造溶瘤病毒外, 还需要探索溶瘤病毒的给药方式、给药剂量、

给药顺序,这可能是解决此问题的关键步骤。其次,不同溶瘤病毒的给药方式和给药剂量也值得去深入研究。虽然局部给药对实体瘤有一定的治疗效果,但是对于远端肿瘤或者转移性肿瘤几乎无能为力。系统性给药存在被机体的外周血稀释,到达病灶的溶瘤病毒不足以治疗肿瘤的问题。同时,给药后产生的抗病毒反应也难以保证溶瘤病毒在体内的存在时间。因此,研究溶瘤病毒的递送系统也是必要的。已有研究尝试多种载体工具来改善病毒静脉给药后的体内递送问题,包括免疫细胞、干细胞、纳米颗粒、水凝胶等。如果被递送的溶瘤病毒核酸物质能够安全稳定地到达肿瘤部位,与CAR-T细胞的联合治疗可能会发挥更好的效果。最后,努力寻找实体瘤中可能存在的靶点以及影响肿瘤微环境中的关键信号因子,根据不同实体瘤灵活设计溶瘤病毒和CAR结构也是一项重要的举措。溶瘤病毒可以选择性地感染并杀伤肿瘤细胞,感染后的肿瘤细胞分泌趋化因子来招募CAR-T细胞和其他免疫细胞。同时,CAR-T细胞在杀伤肿瘤过程中也能促进溶瘤病毒的释放。因此,深层次挖掘溶瘤病毒和CAR-T细胞在复杂的肿瘤微环境中的作用机制,是今后溶瘤病毒联合CAR-T细胞疗法不可或缺的一环,以此寻求更为有效的治疗方案。

### [参 考 文 献]

- [1] 钱云云,张荣波,吴静,等. 溶瘤病毒的抗肿瘤机制及其在临床应用中的研究进展. *肿瘤*, 2018, 38: 6
- [2] Yan L, Liu B. Critical factors in chimeric antigen receptor-modified T-cell (CAR-T) therapy for solid tumors. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 193-204
- [3] Lombard M, Pastoret PP, Moulin AM. A brief history of vaccines and vaccination. *Rev Sci Tech* 2007, 26: 29-48
- [4] Wiemann B, Starnes CO. Coley's toxins, tumor necrosis factor and cancer research: a historical perspective. *Pharmacol Ther*, 1994, 64: 529-64
- [5] Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 252-64
- [6] Rosenberg SA. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer. *J Immunol*, 2014, 192: 5451-8
- [7] Peng M, Mo Y, Wang Y, et al. Neoantigen vaccine: an emerging tumor immunotherapy. *Mol Cancer*, 2019, 18: 128
- [8] Twumasi-Boateng K, Pettigrew JL, Kwok YYY, et al. Oncolytic viruses as engineering platforms for combination immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18: 419-32
- [9] Topp MS, Gökbuğut N, Stein AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*, 2015, 16: 57-66
- [10] Rossig C, Brenner MK. Genetic modification of T lymphocytes for adoptive immunotherapy. *Mol Ther*, 2004, 10: 5-18
- [11] Liu P, Liu M, Lyu C, et al. Acute graft-versus-host disease after humanized anti-CD19-CAR T therapy in relapsed B-ALL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Front Oncol*, 2020, 10: 573822
- [12] Boiarsky J, Upadhyay R, Svensson-Arvelund J, et al. Potentiation of T-cell mediated tumor killing via modulation of the Fas/FasL pathway. *J Immunother Cancer*, 2020, 8: A100-1
- [13] Qian J. Immune escape mechanism of B-cell malignancies on anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell treatment and solution[C]//EDP Science. E3S Web Confer, 2021, 271: 03038
- [14] Keane JT, Posey AD. Chimeric antigen receptors expand the repertoire of antigenic macromolecules for cellular immunity. *Cells*, 2021, 10: 3356
- [15] Till BG, Jensen MC, Wang J, et al. CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results. *Blood*, 2012, 119: 3940-50
- [16] Carpenito C, Milone MC, Hassan R, et al. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106: 3360-5
- [17] Qu J, Mei Q, Chen L, et al. Chimeric antigen receptor (CAR)-T-cell therapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC): current status and future perspectives. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70: 619631
- [18] Kagoya Y, Tanaka S, Guo T, et al. A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects. *Nat Med*, 2018, 24: 352-9
- [19] Gonzalez-Fernandez C, Esteban MA, Cuesta A. Molecular characterization of the T cell costimulatory receptors CD28 and CTLA4 in the European sea bass. *Fish Shellfish Immunol*, 2021, 109: 106-15
- [20] Malissen B. CAR T cells: from tinkering to rational design. *Cell Res*, 2020, 30: 948-9
- [21] Styczyński J. A brief history of CAR-T cells: from laboratory to the bedside. *Acta Haematol Pol*, 2020, 51: 2-5
- [22] Zhang Y, Wang Y, Liu Y, et al. Long-term activity of tandem CD19/CD20 CAR therapy in refractory/relapsed B-cell lymphoma: a single-arm, phase 1-2 trial. *Leukemia*, 2022, 36: 189-96
- [23] Chen J, Qiu S, Li W, et al. Tuning charge density of chimeric antigen receptor optimizes tonic signaling and CAR-T cell fitness. *Cell Res*, 2023, 33: 341-54
- [24] Anikeeva N, Panteleev S, Mazzanti NW, et al. Efficient killing of tumor cells by CAR-T cells requires greater number of engaged CARs than TCRs. *J Biol Chem*, 2021, 297: 101033
- [25] Fesnak AD, June CH, Levine BL. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nat*

- Rev Cancer, 2016, 16: 566-81
- [26] O'Rourke DM, Nasrallah MP, 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. *Sci Transl Med*, 2017, 9: eaaa0984
- [27] Schmidts A, Maus MV. Making CAR T cells a solid option for solid tumors. *Front Immunol*, 2018, 9: 2593
- [28] Heyman B, Yang Y. Chimeric antigen receptor T cell therapy for solid tumors: current status, obstacles and future strategies. *Cancers (Basel)*, 2019, 11: 191
- [29] Li W, Qiu S, Chen J, et al. Chimeric antigen receptor designed to prevent ubiquitination and downregulation showed durable antitumor efficacy. *Immunity*, 2020, 53: 456-70
- [30] Townsend MH, Shrestha G, Robison RA, et al. The expansion of targetable biomarkers for CAR T cell therapy. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37: 163
- [31] Theruvath J, Sotillo E, Mount CW, et al. Locoregionally administered B7-H3-targeted CAR T cells for treatment of atypical teratoid/rhabdoid tumors. *Nat Med*, 2020, 26: 712-19
- [32] Li G, Wang H, Wu H, et al. B7-H3-targeted CAR-T cell therapy for solid tumors. *Int Rev Immunol*, 2022, 41: 625-37
- [33] Holzinger A, Abken H. CAR T cells targeting solid tumors: carcinoembryonic antigen (CEA) proves to be a safe target. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66: 1505-7
- [34] Patel U, Abernathy J, Savani BN, et al. CAR T cell therapy in solid tumors: a review of current clinical trials. *EJHaem*, 2022, 3: 24-31
- [35] Luzzi S, Lucifero AG, Brambilla I, et al. Adoptive immunotherapies in neuro-oncology: classification, recent advances, and translational challenges. *Acta BioMed*, 2020, 91: 18-31
- [36] Jacoby E, Fry TJ. CAR 2.0: The next generation of synthetic receptor-based cellular therapy for cancer[M]// Lee DW, Shah NN. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for cancer. Elsevier, 2020: 199-208
- [37] Dalle Ore C, Coleman-Abadi C, Gupta N, et al. Advances and clinical trials update in the treatment of diffuse intrinsic pontine gliomas. *Pediatr Neurosurg*, 2023, 58: 259-66
- [38] Ross JL, Velazquez Vega J, Plant A, et al. Tumour immune landscape of paediatric high-grade gliomas. *Brain*, 2021, 144: 2594-609
- [39] Gargett T, Truong NGA, Ebert LM, et al. Optimization of manufacturing conditions for chimeric antigen receptor T cells to favor cells with a central memory phenotype. *Cytotherapy*, 2019, 21: 593-602
- [40] Xu C, Ju D, Zhang X. Chimeric antigen receptor T-cell therapy: challenges and opportunities in lung cancer. *Antib Ther*, 2022, 5: 73-83
- [41] Brown CE, Bucktrout S, Butterfield LH, et al. The future of cancer immunotherapy for brain tumors: a collaborative workshop. *J Transl Med*, 2022, 20: 236-48
- [42] Choi BD, Maus MV, June CH, et al. Immunotherapy for glioblastoma: adoptive T-cell strategies. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 2042-8
- [43] He J, Munir F, Ragoonanan D, et al. Combining CAR T cell therapy and oncolytic virotherapy for pediatric solid tumors: a promising option. *Immuno*, 2023, 3: 37-56
- [44] Lee HH, Kim I, Kim UK, et al. Therapeutic efficacy of T cells expressing chimeric antigen receptor derived from a mesothelin-specific scFv in orthotopic human pancreatic cancer animal models. *Neoplasia*, 2022, 24: 98-108
- [45] Castelletti L, Yeo D, van Zandwijk N, et al. Anti-mesothelin CAR T cell therapy for malignant mesothelioma. *Biomark Res*, 2021, 9: 11
- [46] Drougkas K, Karampinos K, Karavolias I, et al. Comprehensive clinical evaluation of CAR-T cell immunotherapy for solid tumors: a path moving forward or a dead end? *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149: 2709-34
- [47] Klampatsa A, Dimou V, Albelda SM. Mesothelin-targeted CAR-T cell therapy for solid tumors. *Expert Opin Biol Ther*, 2021, 21: 473-86
- [48] Abdou Y, Goudarzi A, Yu JX, et al. Immunotherapy in triple negative breast cancer: beyond checkpoint inhibitors. *NPJ Breast Cancer*, 2022, 8: 121
- [49] Chan JD, Harrison AJ, Darcy PK, et al. Chimeric antigen receptor T cell therapies for thoracic cancers--challenges and opportunities. *J Thorac Dis*, 2020, 12: 4510-5
- [50] Specht JM, Maloney DG, Yeung C, et al. Phase I study of adoptive immunotherapy for advanced MUC1\* positive breast cancer with autologous T cells engineered to express a chimeric antigen receptor, huMNC2-CAR44 specific for a cleaved form of MUC1 (MUC1\*). *J Clin Oncol*, 2021, 39: 15\_suppl, TPS2663
- [51] Chen L, Chen F, Li J, et al. CAR-T cell therapy for lung cancer: potential and perspective. *Thorac Cance*, 2022, 13: 889-99
- [52] Dorff TB, Blanchard S, Carruth P, et al. A phase I study to evaluate PSCA-targeting chimeric antigen receptor (CAR)-T cells for patients with PSCA<sup>+</sup> metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC). *J Clin Oncol*, 2020, 38: 6\_suppl, TPS250
- [53] Tschernia NP, Norberg SM, Gulley JL. CAR T cells reach clinical milestone in prostate cancer. *Cancer Immunother*, 2022, 28: 635-6
- [54] Narayan V, Barber-Rotenberg JS, Jung IY, et al. PSMA-targeting TGFβ-insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase I trial. *Nat Med*, 2022, 28: 724-34
- [55] Brown CE, Alizadeh D, Jonsson V, et al. CAR T cell therapy reshapes the tumor microenvironment to promote host antitumor immune responses in glioblastoma. *Cancer Res*, 2021, 81: Abstract nr 59
- [56] Qi C, Gong J, Li J, et al. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: phase I trial interim results. *Nat Med*, 2022, 28: 1189-98
- [57] Conejo-Garcia JR, Guevara-Patino JA. Barriers and opportunities for CAR T-cell targeting of solid tumors. *Immunol Invest*, 2022, 51: 2215-25
- [58] O'Carbhaill RE, Park JH, Halton EF, et al. A phase I

- clinical trial of autologous chimeric antigen receptor (CAR) T cells genetically engineered to secrete IL-12 and to target the MUC16ecto antigen in patients (pts) with MUC16ecto<sup>+</sup> recurrent high-grade serous ovarian cancer (HGSOC). *Gynecol Oncol*, 2020, 159: 42
- [59] Wang Y, Chen M, Wu Z, et al. CD133-directed CAR T cells for advanced metastasis malignancies: a phase I trial. *Oncoimmunology*, 2018, 7: e1440169
- [60] Bell J, McFadden G. Viruses for tumor therapy. *Cell Host Microbe*, 2014, 15: 260-5
- [61] Kelly E, Russell SJ. History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering. *Mol Ther*, 2007, 15: 651-9
- [62] Herrington CS, Coates PJ, Duprex WP. Viruses and disease: emerging concepts for prevention, diagnosis and treatment. *J Pathol*, 2015, 235: 149-52
- [63] Fukuhara H, Ino Y, Todo T. Oncolytic virus therapy: a new era of cancer treatment at dawn. *Cancer Sci*, 2016, 107: 1373-9
- [64] Garber K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98: 298-300
- [65] Cheng PH, Wechman SL, McMasters KM, et al. Oncolytic replication of E1b-deleted adenoviruses. *Viruses*, 2015, 7: 5767-79
- [66] Andtbacka RHI, Kaufman HL, Collichio F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 2780-8
- [67] Kaufman HL, Ruby CE, Hughes T, et al. Current status of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the immunotherapy of melanoma. *J Immunother Cancer*, 2014, 2: 11
- [68] Guo ZS, Lu B, Guo Z, et al. Vaccinia virus-mediated cancer immunotherapy: cancer vaccines and oncolytics. *J Immunother Cancer*, 2019, 7: 6
- [69] Tong AW, Senzer N, Cerullo V, et al. Oncolytic viruses for induction of anti-tumor immunity. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13: 1750-60
- [70] Achard C, Surendran A, Wedge ME, et al. Lighting a fire in the tumor microenvironment using oncolytic immunotherapy. *EBioMedicine*, 2018, 31: 17-24
- [71] Raja J, Ludwig JM, Gettinger SN, et al. Oncolytic virus immunotherapy: future prospects for oncology. *J Immunother Cancer*, 2018, 6: 140
- [72] Wang B, Tian T, Kalland KH, et al. Targeting Wnt/ $\beta$ -catenin signaling for cancer immunotherapy. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, 39: 648-58
- [73] Harrington K, Freeman DJ, Kelly B, et al. Optimizing oncolytic virotherapy in cancer treatment. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18: 689-706
- [74] Pfirschke C, Engblom C, Rickelt S, et al. Immunogenic chemotherapy sensitizes tumors to checkpoint blockade therapy. *Immunity*, 2016, 44: 343-54
- [75] Liu Z, Ravindranathan R, Kalinski P, et al. Rational combination of oncolytic vaccinia virus and PD-L1 blockade works synergistically to enhance therapeutic efficacy. *Nat Commun*, 2017, 8: 14754
- [76] Roulstone V, Pedersen M, Kyula J, et al. BRAF- and MEK-targeted small molecule inhibitors exert enhanced antimelanoma effects in combination with oncolytic reovirus through ER stress. *Mol Ther* 2015, 23: 931-42
- [77] Ajina A, Maher J. Prospects for combined use of oncolytic viruses and CAR T-cells. *J Immunother Cancer*, 2017, 5: 90
- [78] Ilett E, Kottke T, Thompson J, et al. Prime-boost using separate oncolytic viruses in combination with checkpoint blockade improves anti-tumour therapy. *Gene Ther*, 2017, 24: 21-30
- [79] Tanoue K, Rosewell Shaw A, Watanabe N, et al. Armed oncolytic adenovirus-expressing PD-L1 mini-body enhances antitumor effects of chimeric antigen receptor T cells in solid tumors. *Cancer Res*, 2017, 77: 2040-51
- [80] Engeland CE, Grossardt C, Veinalde R, et al. CTLA-4 and PD-L1 checkpoint blockade enhances oncolytic measles virus therapy. *Mol Ther* 2014, 22: 1949-59
- [81] Zhang C, Fang L, Wang X, et al. Oncolytic adenovirus-mediated expression of decorin facilitates CAIX-targeting CAR-T therapy against renal cell carcinoma. *Mol Ther Oncolytics*, 2022, 24: 14-25
- [82] Nishio N, Diaconu I, Liu H, et al. Armed oncolytic virus enhances immune functions of chimeric antigen receptor-modified T cells in solid tumors. *Cancer Res*, 2014, 74: 5195-205
- [83] Heidbuechel JPW, Engeland CE. Oncolytic viruses encoding bispecific T cell engagers: a blueprint for emerging immunovirotherapies. *J Hematol Oncol*, 2021, 14: 63
- [84] Rosewell Shaw A, Porter CE, Watanabe N, et al. Adenovirotherapy delivering cytokine and checkpoint inhibitor augments CAR T cells against metastatic head and neck cancer. *Mol Ther*, 2017, 25: 2440-51
- [85] Wing A, Fajardo CA, Posey AD Jr, et al. Improving CART-cell therapy of solid tumors with oncolytic virus-driven production of a bispecific T-cell engager. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6: 605-16
- [86] Watanabe K, Luo Y, Da T, et al. Pancreatic cancer therapy with combined mesothelin-redredirected chimeric antigen receptor T cells and cytokine-armed oncolytic adenoviruses. *JCI Insight*, 2018, 3: e99573
- [87] Moon EK, Wang LS, Bekdache K, et al. Intra-tumoral delivery of CXCL11 via a vaccinia virus, but not by modified T cells, enhances the efficacy of adoptive T cell therapy and vaccines. *Oncoimmunology*, 2018, 7: e1395997
- [88] Porter CE, Rosewell Shaw A, Jung Y, et al. Oncolytic adenovirus armed with BiTE, cytokine, and checkpoint inhibitor enables CAR T cells to control the growth of heterogeneous tumors. *Mol Ther*, 2020, 28: 1251-62
- [89] Li Y, Xiao F, Zhang A, et al. Oncolytic adenovirus targeting TGF- $\beta$  enhances anti-tumor responses of mesothelin-targeted chimeric antigen receptor T cell therapy against breast cancer. *Cell Immunol*, 2020, 348: 104041
- [90] Aalipour A, Le Boeuf F, Tang M, et al. Viral delivery of

- CAR targets to solid tumors enables effective cell therapy. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 17: 232-40
- [91] Tang X, Li Y, Ma J, et al. Adenovirus-mediated specific tumor tagging facilitates CAR-T therapy against antigen-mismatched solid tumors. *Cancer Lett*, 2020, 487: 1-9
- [92] Zhang S, Rabkin SD. The discovery and development of oncolytic viruses: are they the future of cancer immunotherapy? *Expert Opin Drug Discov*, 2020, 16: 391-410
- [93] Arcangeli S, Mestermann K, Weber J, et al. Overcoming key challenges in cancer immunotherapy with engineered T cells. *Curr Opin Oncol*, 2020, 32: 398-407
- [94] Park AK, Fong Y, Kim SI, et al. Effective combination immunotherapy using oncolytic viruses to deliver CAR targets to solid tumors. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eaaz1863
- [95] Liu Y, Zheng Y, Deng T, et al. Oncolytic herpes simplex virus delivery of dual CAR targets of CD19 and BCMA as well as immunomodulators to enhance therapeutic efficacy in solid tumors combined with CAR T cell therapy. *Front Oncol*, 2022, 12: 1037934
- [96] Rahman MM, McFadden G. Oncolytic viruses: newest frontier for cancer immunotherapy. *Cancers*, 2021, 13: 5452
- [97] Vandercappellen J, Van Damme J, Struyf S. The role of CXC chemokines and their receptors in cancer. *Cancer Lett*, 2008, 267: 226-44
- [98] Springuel L, Lonz C, Alexandre B, et al. Chimeric antigen receptor-T cells for targeting solid tumors: current challenges and existing strategies. *BioDrugs*, 2019, 33: 515-37
- [99] Wang G, Zhang Z, Zhong K, et al. CXCL11-armed oncolytic adenoviruses enhance CAR-T cell therapeutic efficacy and reprogram tumor microenvironment in glioblastoma. *Mol Ther*, 2023, 31: 134-53
- [100] Fang L, Tian W, Zhang C, et al. Oncolytic adenovirus-mediated expression of CCL5 and IL12 facilitates CA9-targeting CAR-T therapy against renal cell carcinoma. *Pharmacol Res*, 2023, 189: 106701
- [101] Messmer MN, Netherby CS, Banik D, et al. Tumor-induced myeloid dysfunction and its implications for cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 64: 1-13
- [102] Wang PF, Song SY, Wang TJ, et al. Prognostic role of pretreatment circulating MDSCs in patients with solid malignancies: a meta-analysis of 40 studies. *Oncoimmunology*, 2018, 7: e1494113
- [103] Jayalie VF, Sekarutami SM. Combining oncolytic virus and radiation therapy for cancer management. *J Cancer Metastasis Treatment*, 2022, 8: 1-17
- [104] Kaufman HL, Kim DW, DeRaffele G, et al. Local and distant immunity induced by intralesional vaccination with an oncolytic herpes virus encoding GM-CSF in patients with stage IIIc and IV melanoma. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17: 718-30
- [105] Zhang W, Hu X, Liang J, et al. oHSV2 can target murine colon carcinoma by altering the immune status of the tumor microenvironment and inducing antitumor immunity. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 16: 158-71
- [106] Bronte V, Serafini P, Mazzoni A, et al. L-arginine metabolism in myeloid cells controls T-lymphocyte functions. *Trends Immunol*, 2003, 24: 301-5
- [107] Sinha P, Clements VK, Bunt SK, et al. Cross-talk between myeloid-derived suppressor cells and macrophages subverts tumor immunity toward a type 2 response. *J Immunol*, 2007, 179: 977-83
- [108] DeRenzo C, Gottschalk S. Genetic modification strategies to enhance CAR T cell persistence for patients with solid tumors. *Front Immunol*, 2019, 10: 218
- [109] Labarta-Bajo L, Nilsen S P, Humphrey G, et al. Type I IFNs and CD8 T cells increase intestinal barrier permeability after chronic viral infection. *J Exp Med*, 2020, 217: e20192276
- [110] Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14: 642-62
- [111] Zhao Z, Condomines M, van der Stegen SJC, et al. Structural design of engineered costimulation determines tumor rejection kinetics and persistence of CAR T cells. *Cancer Cell*, 2015, 28: 415-28
- [112] Pikor LA, Bell JC, Diallo JS. Oncolytic viruses: exploiting cancer's deal with the devil. *Trends Cancer*, 2015, 1: 266-77
- [113] Choi IK, Lee JS, Zhang SN, et al. Oncolytic adenovirus co-expressing IL-12 and IL-18 improves tumor-specific immunity via differentiation of T cells expressing IL-12R $\beta$ 2 or IL-18R $\alpha$ . *Gene Ther*, 2011, 18: 898-909
- [114] Arnold CE, Whyte CS, Gordon P, et al. A critical role for suppressor of cytokine signalling 3 in promoting M1 macrophage activation and function *in vitro* and *in vivo*. *Immunology*, 2014, 141: 96-110