

DOI: 10.13376/j.cbbs/2025045

文章编号: 1004-0374(2025)04-0450-09

CAR-T细胞治疗胃癌的研究进展

金玉玲¹, 朱明宇¹, 杜娟¹, 瞿姗姗¹, 汪洋¹, 胡翰¹, 刘滨磊^{1,2*}

(1 湖北工业大学生命科学与健康工程学院, 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 T 细胞 (chimeric antigen receptor T cell, CAR-T) 是一种前沿的细胞免疫治疗方法, 在血液系统恶性肿瘤的治疗中已经取得了一些突破, 但是在胃癌的治疗中仍然面临诸多挑战, 不过越来越多的临床试验开始尝试将 CAR-T 用于胃癌的治疗。本文综述了 CAR-T 细胞的发展历程, 并探讨了其在胃癌治疗中的主要靶点, 例如针对 Claudin18.2 的 CAR-T 细胞治疗已取得初步突破。同时, 本文也概述了 CAR-T 细胞治疗胃癌所面临的挑战及潜在应对策略, 包括增强 CAR-T 细胞的抗原特异性识别能力、提高其浸润效率、改善免疫抑制性微环境、逆转 CAR-T 细胞耗竭以及联合溶瘤病毒等。最后, 本文简要讨论了提升 CAR-T 细胞治疗胃癌效果的途径, 期望能通过不同的治疗策略为胃癌患者带来更多的治愈希望。

关键词: CAR-T 细胞; 胃癌; 免疫治疗; Claudin18.2; 肿瘤特异性抗原

中图分类号: R730.51; R873 **文献标志码:** A

Advancements in CAR-T cell therapy for gastric cancer

JIN Yu-Ling¹, ZHU Ming-Yu¹, DU Juan¹, QU Shan-Na¹, WANG Yang¹, HU Han¹, LIU Bin-Lei^{1,2*}

(1 School of Life and Health Sciences, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;

2 Wuhan Binhui Biological Technology Co., Ltd., Wuhan 436030, China)

Abstract: Chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy represents a revolutionary approach in adoptive immunotherapy, demonstrating remarkable efficacy against hematologic malignancies. Despite these advances, significant challenges persist in translating CAR-T efficacy to solid tumors, particularly in gastric cancer where emerging clinical trials are actively investigating CAR-T applications. This review systematically examines the developmental trajectory of CAR-T technology, focusing on current molecular targets for gastric cancer intervention with particular emphasis on Claudin 18.2-specific constructs that have shown promising preclinical outcomes. Additionally, the paper introduces the challenges faced in the application of CAR-T cell therapy for gastric cancer, along with potential solutions. These include enhancing CAR-T cells' antigen-specific recognition capabilities, augmenting their infiltration efficiency, modulating the immunosuppressive microenvironment to create a more favorable treatment landscape, reversing CAR-T cell exhaustion, and combining oncolytic virus, etc. Lastly, the paper briefly explores avenues to augment the efficacy of CAR-T cell therapy in gastric cancer, hoping to bring more hope for gastric cancer patients through different treatment strategies.

Key words: CAR-T cells; gastric cancer; immunotherapy; Claudin18.2; tumor specific antigen

胃癌 (gastric cancer) 作为最常见的实体瘤形式之一, 已成为全球第三大死亡原因。胃癌的症状在

早期通常不明显, 许多患者诊断时已处于中晚期, 由于治疗无效和多重耐药性, 其预后很差。CAR-T

收稿日期: 2025-01-10; 修回日期: 2025-03-18

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(82001758); 国家自然科学基金项目(32270969); 湖北省重大科技专项(2022ACA001)

*通信作者: E-mail: liubl@hbut.edu.cn

细胞治疗作为一种以改造患者自身 T 细胞为基础的免疫细胞治疗技术, 具有独特的优势。通过将具有特定抗原识别功能的嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) 引入患者的 T 细胞中, 使得这些 T 细胞能够主动识别和攻击肿瘤细胞, 从而达到治疗肿瘤的目的。CAR-T 细胞疗法在一些血液系统肿瘤 (如急性淋巴细胞白血病) 中取得了较好的临床效果后, 随后也广泛用于胃癌的治疗。本文综述了 CAR-T 细胞治疗在胃癌领域的研究进展。

1 CAR-T细胞治疗的概念和发展历程

CAR-T 细胞治疗是一种基于人工合成的嵌合抗原受体改造 T 细胞的免疫疗法, 该疗法的核心在于通过基因工程技术, 使患者自身的 T 细胞表面表达特定设计的 CAR, 从而赋予它们精准识别和有效杀伤癌细胞的能力。CAR 是由单链抗体的外部抗原识别结构域、跨膜结构域和 T 细胞激活信号传导器的内部结构域组成, 能够通过外源性抗原的结合, 激活 T 细胞的抗肿瘤免疫应答。

CAR-T 细胞治疗的发展历程可追溯至 20 世纪 80 年代, 自 CAR 概念首次问世以来, 该疗法已历经四代演进^[1]。第一代 CAR 仅具有 CD3 ζ 信号结构域, 由于缺乏 T 细胞增殖和抗肿瘤功能所必需的共刺激信号, 其疗效有限。第二代整合 CD3 ζ 与 CD28 或 4-1BB 等共刺激结构域, 提升了 T 细胞的增殖、反应能力和细胞毒性。第三代则整合额外共刺激域, 如 CD28/4-1BB/CD3 ζ 或 CD28/OX40/CD3 ζ ,

进一步增强 T 细胞的激活、增殖和长期存活的能力。然而, 第三代 CAR-T 细胞治疗呈现异质性疗效, 在淋巴瘤及肺转移模型中, 整合 CD28 与 4-1BB 共刺激结构域的 CAR-T 相较第二代展现出更强的细胞因子分泌能力及显著提升的体内抗肿瘤活性^[2]; 在胰腺癌模型中, 它们未能优于第二代 CAR^[3]。因此, 需要进行额外的研究以确认第三代 CAR 的安全性和有效性。第四代 CAR-T (亦称 TRUCKs) 通过整合可诱导表达系统及免疫调控元件, 展现出多维度的功能增强特性。除经典的核因子活化 T 细胞 (nuclear factor of activated T cells, NFAT) 响应元件外, 还包括如 PD-1 抗体、TGF β 抗体和 IL-10 等^[4, 5] (图 1), 实现了 CAR-T 细胞激活、记忆 T 细胞生成及免疫系统再激活的协同信号。

总体而言, CAR-T 细胞治疗技术已历经四代革新, 每一代都在不断优化 CAR 的结构, 旨在提升其治疗效果及安全性。这些结构的微妙变化改变了 CAR-T 疗法, 并激起了胃癌免疫治疗研究的巨大热情。在恶性血液病的治疗中, CAR-T 细胞治疗已取得了显著成效。随着技术的持续进步, 其在胃癌的临床试验中也开始展现出积极进展, 逐渐成为胃癌治疗领域的一个关键研究方向。

2 CAR-T细胞治疗在胃癌中的应用

CAR-T 细胞表面的嵌合抗原受体特异性地识别并结合胃癌细胞表面的特异性抗原 (靶点) 后, CAR-T 细胞会被迅速激活, 并释放穿孔素和颗粒酶

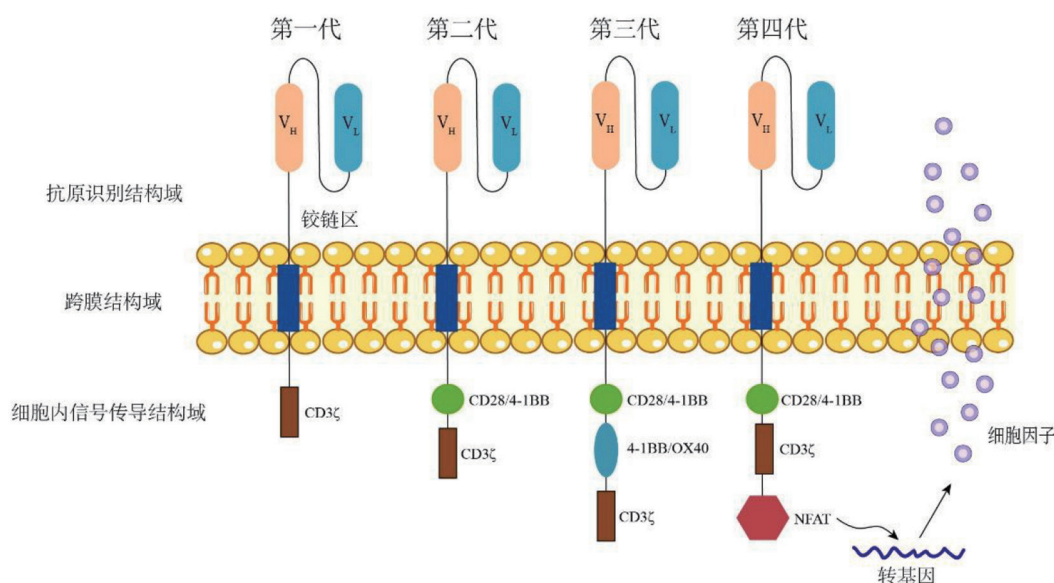


图1 第一代到第四代的CAR-T结构发展

等杀伤性分子，导致肿瘤细胞的死亡。表 1 列出了多种 CAR-T 治疗胃癌的靶点分子。

2.1 Claudin18.2

细胞紧密连接蛋白 18.2 (Claudin18.2, CLDN18.2) 是定位于细胞膜表面的跨膜蛋白，由 *CLDN18* 基因编码，其结构是由 4 个跨膜结构域、N 端、C 端及

2 个胞外环构成。正常情况下，Claudin18.2 低水平表达于胃黏膜分化上皮细胞，其主要作用是促进细胞间的连接，对维持胃黏膜屏障功能至关重要，能有效阻止胃酸中的 H⁺ 通过细胞旁途径渗漏。然而，在胃癌等恶性肿瘤的病理状态下，Claudin18.2 的表达显著上调，使其成为胃癌的一个重要生物标志物。

表1 CAR-T细胞治疗胃癌的临床试验靶点

靶点	临床阶段	临床试验登记号	发起者
Claudin18.2	I	NCT05472857	苏州易慕峰生物科技有限公司
	I	NCT05277987	深圳市第五人民医院
	I	NCT05952375	青岛大学附属医院
	I	NCT05393986	北京大学
	I	NCT04977193	上海隆耀生物科技有限公司
	I	NCT06353152	北京大学
	I	NCT05539430	传奇生物美国公司
	I	NCT05620732	深圳大学总医院
	I	NCT03159819	上海长海医院
	I	NCT03890198	西安交通大学第一附属医院
	I/II	NCT04404595	科济药业控股有限公司
	I/II	NCT04581473	科济药业控股有限公司
CEA	I	NCT06010862	重庆精准生物技术有限公司
	I	NCT05415475	重庆精准生物技术有限公司
	I	NCT06126406	重庆精准生物技术有限公司
	I	NCT06013111	中国医科大学附属第一医院
	I	NCT05396300	浙江大学第一附属医院
	I	NCT02349724	中国西南医院
	I	NCT06043466	重庆精准生物技术有限公司
	I	NCT03682744	索伦托医疗公司
	I	NCT02850536	罗杰·威廉姆斯医疗中心
	I	NCT02416466	罗杰·威廉姆斯医疗中心
	I/II	NCT04348643	重庆精准生物技术有限公司
	I/II	NCT05538195	重庆精准生物技术有限公司
EpCAM	I/II	NCT06006390	重庆精准生物技术有限公司
	I	NCT05028933	浙江大学
	I	NCT03563326	四川大学华西医院
	I	NCT02915445	四川大学
	I	NCT04151186	唐都医院
HER2	I/II	NCT03013712	成都医学院第一附属医院
	I	NCT03740256	贝勒医学院
	I	NCT04650451	贝利库姆制药公司
MUC1	I/II	NCT02713984	中国西南医院
	I	NCT05239143	波塞达治疗公司
NKG2D	I/II	NCT02617134	博生吉医药科技(苏州)有限公司
	I	NCT05583201	中国人民解放军军事医学科学院附属医院
MSLN	I	NCT04107142	新细胞医学有限公司
	I	NCT06623396	纪念斯隆·凯特琳癌症中心
B7-H3	I	NCT04864821	博生吉医药科技(苏州)有限公司
CHM-2101	I/II	NCT06055439	嵌合疗法公司

双种属特异性 Claudin18.2 CAR-T 细胞 (hu8E5 和 hu8E5-2I ScFv 结合 CD28 共刺激结构域) 的构建, 实现了对人源及鼠源胃癌细胞系的选择性识别^[6]。该 CAR-T 细胞展现出高组织特异性和抗原亲和力, 在体内外实验中均能有效杀伤胃癌细胞。此外, 其还具备显著的肿瘤浸润与清除能力, 能够浸润并消除来源于人和小鼠胃癌细胞系的异种移植模型中的肿瘤组织, 同时保持对正常组织的较低损伤^[7]。借助慢病毒载体构建的 CLDN18.2-PD1/CD28 CAR-T 细胞, 在胃癌异种移植模型中展现出显著抗肿瘤疗效^[8]。静脉注射 27 天后, 相较于对照组, 治疗组小鼠肿瘤体积大幅缩减, 且未观察到死亡或体重减轻等不良反应。在 2024 年美国临床肿瘤学会 (American Society of Clinical Oncology, ASCO) 的年会上, 北京大学肿瘤医院披露了舒瑞基奥仑赛注射液 (Saticabtagene autoleucel, satri-cel; 一款针对 CLDN-18.2 的 CAR-T 细胞疗法, 研发代号为 CT041) 治疗胃肠道肿瘤的 I 期临床试验 (NCT03874897) 的最终研究成果^[9]。该研究共纳入 98 例 CLDN18.2 阳性晚期胃肠道肿瘤患者, 旨在评估不同剂量 satri-cel 的治疗效果。结果显示, 治疗后有 70 例患者的肿瘤出现不同程度的缩小, 总缓解率 (overall response rate, ORR) 达到 38.8%, 疾病控制率 (disease control rate, DCR) 高达 91.8%。中位无进展生存期为 4.4 个月, 总生存期为 8.8 个月。值得关注的是, 在整个试验过程中, 未观察到剂量限制性毒性、治疗相关死亡或免疫效应细胞相关神经毒性综合征等严重不良事件, 表明 satri-cel 具有良好的安全性。Ib/II 期临床试验 (NCT04404595)^[10] 报告了 CT041 在一名既往多次治疗失败的转移性胃癌患者中的治疗结果。该患者在接受两次 CT041 输注后, 体内 CAR-T 细胞数量显著增加, 循环肿瘤 DNA 减少。治疗期间, 患者仅出现轻微腹水症状, 未监测到严重不良反应。LY011 是一种第三代抗 Claudin18.2 CAR-T 疗法, 目前正处于 I 期研究阶段 (NCT04966143 和 NCT-04977193)。初步结果显示, 在纳入的 3 例胃癌患者和 1 例胰腺癌患者中, 总缓解率 (ORR) 达到 50.0%, 疾病控制率 (DCR) 为 100%。值得注意的是, 在这些患者中, 未观察到任何意外的严重不良反应^[11]。截至 2024 年 8 月, 北京大学肿瘤医院在中国进行的针对 Claudin18.2 阳性晚期胃癌及食管胃结合部腺癌的确证性 II 期临床试验, 已顺利完成所有受试者的招募、入组及随机化过程。这是一项在中国进行的开放标签、多中心、随机对照临床试验, 旨在

评估 satri-cel 在治疗上述疾病中的有效性与安全性。其他靶向 CLDN18.2 的 CAR-T 细胞药物, 如 AZD6422、KD496 以及 IMC002 也已进入 I 期临床试验。

2.2 CEA

癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 属于酸性糖蛋白, 其分子呈现高度糖化状态, 约 45% 的组成成分是蛋白质, 由单链多肽构成。自妊娠第二个月起, CEA 便存在于胎儿的消化系统中, 包括肠道、胰腺和肝脏等部位。胎儿出生后, 血清中 CEA 的浓度会明显下降。在正常成人体内, CEA 含量处于极低水平。一旦胃癌发生, 癌细胞内的 CEA 合成通路被迅速激活, CEA 会迅速合成并在胃癌细胞周围大量增殖。这些增殖细胞脱落后进入血液及淋巴循环系统, 进而引起 CEA 水平显著上升^[12], 成为胃癌诊断及病情监测的一个重要生物标志物。临床前研究有力证实了 CEA CAR-T 细胞在胃癌治疗模型中的安全性与有效性。在胃癌小鼠模型中, 相较于对照组, 接受 CEA CAR-T 细胞治疗的胃癌小鼠, 其肿瘤生长得到显著抑制并且生存期延长^[13]。Zhang 等^[14] 对第三代 CAR 结构与人源化或全人源抗 CEA 抗体 (包括 M5A、hMN-14、BW431/26 和 C2-45) 的结合进行了深入研究, 以探究其抗肿瘤疗效。他们评估了不同 CEA-CAR 设计在体外及体内的治疗效果。在重复的 CEA 抗原刺激试验中, M5A 展现出最佳的细胞增殖能力和细胞因子分泌水平。此外, 在小鼠异种移植模型中, 未经预处理的 M5A CAR-T 细胞经尾静脉注射给药后, 27 天内 4 只小鼠的肿瘤体积显著缩小, 表现出良好的抗肿瘤效果。将 CEA CAR-T 细胞疗法与重组人 IL-12 细胞因子联合应用后, 在胃癌细胞 MGC803 中的实验结果显示, 重组人 IL-12 能有效促进 CEA CAR-T 细胞的活化、增殖, 并增强其细胞毒性。体内实验进一步证实, 该联合疗法在治疗异种移植胃癌小鼠 21 天后, 肿瘤体积明显减小; 至第 28 天, 肿瘤几乎完全消退。同时, 检测小鼠血清中的细胞因子水平发现, IL-2、IFN- γ 及 TNF- α 的含量均显著上升^[15]。I 期临床试验 (NCT06010862, 始于 2023 年) 旨在评估 CAR-T 细胞疗法在 CEA 阳性晚期或转移性胃癌患者中的安全性和耐受性。该试验将进一步确定 CAR-T 细胞疗法的最大耐受剂量, 并为后续的 II 期临床试验推荐合适的剂量。

2.3 EpCAM

上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, EpCAM) 由 GA-733-2 基因编码, 是一种 40 kDa 的

跨膜糖蛋白。该分子虽具备较弱的同型细胞间黏附能力,但在细胞连接与信号转导过程中仍扮演关键角色。它通过与 Wnt/ β -catenin、TGF- β /SMAD 等多种信号通路的交互作用,调控细胞的增殖速率、代谢平衡以及血管生成进程。EpCAM 通常在胃癌等上皮来源的肿瘤中呈现高表达,并且与肿瘤的恶性程度、转移潜力和预后不良相关。在异种移植模型中,静脉输注(剂量为 1×10^7 、 2×10^6) EpCAM CAR-T 细胞能有效延缓肿瘤生长;与此同时,腹膜输注的小鼠生存期更长,体重恢复更快,两种输注方式均未观察到组织损伤现象。进一步在人源化小鼠模型中开展研究,注入不同剂量(1×10^6 、 5×10^6 和 1×10^7) 的 EpCAM CAR-T 细胞,同样未观察到剂量依赖性毒性,且有效抑制了肿瘤生长,延长了小鼠存活率,同时未对组织造成损伤^[16]。在胃癌细胞系 MKN-45 异种移植模型中,经 15 天给药后,EpCAM CAR-T 细胞能够完全消除肿瘤^[17]。然而,该模型在治疗后出现了肿瘤耐药或复发的问题。针对这一挑战,后续研究揭示了靶向 EpCAM 和 ICAM-1 的双特异性 CAR-T 细胞在预防胃癌复发方面的显著效果,同时这些细胞还能有效减小肿瘤体积。通过纵向 PET-CT 扫描观察,确认治疗组小鼠中的 CAR-T 细胞成功归巢并在胃癌部位扩增^[18]。为了进一步评估 EpCAM CAR-T 细胞治疗 EpCAM 阳性胃癌的安全性和有效性,开展了 I 期临床试验(NCT02915445)。初步临床数据表明,12 例患者接受 EpCAM CAR-T 细胞治疗后未出现任何靶向毒性,其中有 2 例出现部分应答,3 例无进展生存期超过 23 个月。此外,一项针对晚期胃癌患者,旨在评估 EpCAM CAR-T 细胞治疗安全性和耐受性的 I 期临床试验(NCT05028933)已于 2021 年正式启动。在 2024 年 ASCO 年会上,公布了 IMC001 作为一种用于治疗晚期消化系统肿瘤的 EpCAM CAR-T 疗法的最新研究成果。IMC001 在 15 例晚期胃癌患者的 I 期临床试验(NCT03644056)中^[19],疾病控制率达到 33.3%,在治疗过程中未观察到剂量限制性毒性,同时也未达到最大耐受剂量。在不良事件方面,最常见的情况包括全身虚弱、食欲下降、发热和咳嗽,均为轻度至中度。研究过程中未报告 4 级或 5 级治疗性突发不良事件。然而以 EpCAM 为靶点的 CAR-T 细胞治疗可能伴随脱靶风险。为应对这一挑战,通过基因编辑技术在 CAR-T 细胞中敲除 *CD11a*、*CD49d* 和 *PSGL1* 能有效降低 CAR-T 细胞的毒性,同时保持其治疗功效^[20]。此策略不仅促进

T 细胞记忆的形成,还减少耗竭相关信号通路的激活。*CD11a*、*CD49d* 和 *PSGL1* 的三重敲除显著增强 CAR-T 记忆细胞的发育,并有效减轻 T 细胞的耗竭现象。这一发现为优化 CAR-T 治疗的安全性提供了新的方向,并为胃癌治疗带来新的希望。

以上研究结果显示,CAR-T 细胞疗法在胃癌中展现出巨大潜力,特别是在针对特定靶点的治疗中。然而,其广泛应用仍面临诸多挑战,包括寻找更多有效靶点、提高治疗效果并减少不良反应等。

3 CAR-T细胞治疗胃癌的挑战与潜在策略

3.1 增强CAR-T的抗原特异性识别

肿瘤抗原是指在细胞恶性转化过程中新近合成并高表达的蛋白质和多肽分子的集合。根据肿瘤抗原与胃癌的关系,肿瘤抗原主要分为肿瘤特异性抗原(tumor specific antigens, TSAs)和肿瘤相关抗原(tumor associated antigens, TAAs)。相比较而言,TAAs 不如 TSAs 特异。最佳靶点应在胃癌细胞表面特异性表达,而在正常组织中低表达或者不表达。CAR-T 细胞治疗胃癌的一个重要挑战在于识别一种由肿瘤细胞而非正常细胞选择性表达的靶抗原。CAR-T 疗法在胃癌中靶向的许多抗原,包括 CEA、MUC1 和 HER2 等,也存在于正常组织中,可能导致脱靶效应。因此,发现和验证更具特异性和普遍适用性的抗原对于推进胃癌治疗中的 CAR-T 细胞疗法至关重要。例如, Claudin18.2 在胃癌细胞中的表达水平显著高于正常细胞,从而确保 CAR-T 细胞能够特异性地识别并攻击胃癌细胞。此外,还可以通过优化 CAR 的结构(如引入更精确的识别机制)和调控 CAR-T 细胞的激活过程,来提高其特异性并减少脱靶效应。靶向 HER2 和 CLDN18.2 的并联 CAR-T 细胞疗法,在治疗异种移植胃癌裸鼠模型中展现出良好效果。该疗法不仅能有效抑制胃癌细胞的生长,还能降低脱靶毒性的发生概率。免疫组化检测结果显示,肿瘤组织中 $CD3^+$ T 细胞发生了明显浸润^[21]。因此,这种方法可作为胃癌治疗的潜在策略。逻辑门控 CAR-T 细胞疗法基于布尔逻辑门控系统(Boolean logic gates, 包括 AND、OR、NOT 门),通过多抗原信号整合实现 T 细胞活性的条件性激活策略,显著提升了 CAR-T 疗法的靶向特异性并降低了脱靶风险。通过构建转录偶联的多受体合成基因回路,研究人员成功开发一种可编程的 AND 逻辑门控 CAR-T 系统^[22]。该系统展现出高度的特异性,仅当两种肿瘤抗原(例如 EGFR 与 HER2)

同时共表达时才会激活 T 细胞, 而对单抗原阳性细胞或正常组织则无响应。该方法有望在 CAR-T 细胞治疗胃癌中显著降低脱靶毒性, 有效保护正常组织免受损伤, 进而更高效地发挥抗肿瘤作用, 显著提升治疗效果。

3.2 提高CAR-T细胞浸润

胃癌产生的物理屏障, 诸如致密的间质基质及压缩的血管网络, 构成了 CAR-T 细胞在进入免疫抑制性肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 前的一大阻碍。这些屏障严重阻碍了 CAR-T 细胞的有效渗透, 使其难以深入胃癌组织。渗透不足导致 CAR-T 细胞无法充分接触并清除肿瘤组织内的胃癌细胞, 进而削弱了整体治疗效果。转运到胃癌组织的 CAR-T 细胞数量决定了 CAR-T 疗法能否成功。首先, 由于肿瘤细胞过度增殖、血管形成异常和扩张的肿瘤组织中血液供应不足, 胃癌中会出现局部组织缺氧^[23]。而 CAR-T 细胞的运输和激活取决于肿瘤血管, 因此, CAR-T 细胞难以到达远离血管的肿瘤组织, 从而导致治疗耐药性^[24]。同时, 在缺氧的肿瘤微环境中, 肿瘤细胞会分泌一系列细胞因子, 如 TGF- β 和 IL-10, 这些细胞因子能够招募并激活免疫抑制细胞 (如调节性 T 细胞和髓源性抑制细胞), 进而抑制 CAR-T 细胞的活性和功能, 导致 CAR-T 细胞被耗竭^[25]。缺氧促进 HIF-1 α 的表达, HIF-1 α 激活促血管生成因子 (如 VEGF-A) 的分泌。VEGF-A 通过上调其受体在血管内皮细胞上的表达, 促进血管生成但可能同时干扰正常的血管结构和功能。此外, VEGF-A 还下调了内皮细胞上 ICAM-1 和 VCAM-1 等黏附分子的表达, 这些分子对于 CAR-T 细胞与血管内皮细胞的相互作用至关重要, 从而间接抑制了 CAR-T 细胞穿越血管内皮细胞屏障进入肿瘤组织的能力^[26, 27]。肝素酶可通过降解细胞外基质中的特定成分, 改善肿瘤微环境的渗透性, 从而增强 CAR-T 细胞的定向归巢能力和肿瘤穿透效率^[28]。通过在 CAR-T 细胞表面表达与肿瘤来源趋化因子相匹配的受体, 能够增强其对肿瘤部位的趋向性。例如, 通过基因修饰技术, 如整合素 $\alpha\beta6$ -CAR-T 细胞表达 CXCR2, 或在 CAR-T 细胞表面过表达 CXCR1 和 CXCR2, 均可有效提升这些细胞的转运效率, 进而增强胃癌的治疗效果^[29-31]。通过基因工程技术开发新型条件性调控 CAR-T 系统^[32], 整合 NFAT 响应元件与趋化因子 CCL19 表达模块, 增强 CAR-T 细胞的浸润能力, 从而进一步促进 CAR-T 细胞的抗肿瘤能力, 为探索 CAR-T 细胞治

疗胃癌提供了新的策略。

3.3 改善免疫抑制性微环境

与血液系统恶性肿瘤相比, 胃癌存在于复杂的微环境中 (TME), 包括所有非肿瘤成分、代谢物和分泌物。这种环境具有酸性、低氧、高渗透等特点, 大多数 TME 通过调节趋化因子水平和类型来促进促肿瘤免疫细胞募集并抑制抗肿瘤反应, 而趋化因子往往表达较少。因此, 提高 TME 中特异性趋化因子的水平可能是增加抗肿瘤效应细胞积累的关键策略。共表达 CXCL10 和 IL-15 的 Claudin18.2 CAR-T 细胞, 在胃癌细胞系 NUGC4-T21 的异种移植模型中展现出了显著的肿瘤消退及存活率延长的效果^[33]。设计可在局部诱导细胞因子 IL-2 表达的 synNotch 受体, 通过时空限制性分泌与信号通路冗余设计, 实现了对免疫抑制性微环境的有效应对^[34]。基于此, 探索并优化胃癌治疗中多种 synNotch 受体的应用, 有望成为改善免疫抑制性微环境的新途径。PARP11 (poly-ADP ribose polymerase-11) 通过促进调节性 T 细胞及腺苷等细胞因子的产生, 下调 CD8⁺ 细胞毒性 T 淋巴细胞表面的 I 型干扰素受体 IFNAR1 (type I interferon receptor), 进而削弱了 T 细胞溶解肿瘤细胞的能力^[35]。因此, 下调 PARP11 的表达或使用 PARP11 抑制剂, 能有效避免免疫抑制, 为提高 CAR-T 细胞在治疗胃癌方面的效果提供了新的策略。

3.4 逆转CAR-T细胞耗竭

T 细胞耗竭是在慢性病毒感染和肿瘤抗原持续暴露的情况下的一种功能缺陷状态, 表现为抑制性受体表达上调及细胞因子分泌能力下降^[36]。当 PD-L1 配体与 CAR-T 细胞表面的 PD-1 受体结合时, 此免疫检查点相互作用激活下游抑制性信号通路, 诱导 CAR-T 细胞功能失调并呈现耗竭表型。研究者创新性地设计出一种能分泌靶向 PD-1/TGF- β 双免疫抑制通路捕获蛋白的 CAR-T 细胞^[37], 该细胞具备双特异性结合域, 能够同时阻断 PD-1/PD-L1 相互作用并中和 TGF- β 活性。相较于传统 CAR-T 及单一靶向 PD-1 的改良型 CAR-T, 该双靶向策略显著降低耗竭标志物 TOX (thymocyte selection associated high mobility group box) 表达, 增强了 T 细胞的持久性、扩增能力及抗耗竭能力。基于此, 通过单细胞测序等筛选胃癌特异性免疫检查点, 并联合 TGF- β 通路抑制的系统性靶向策略, 可能为突破当前胃癌治疗瓶颈提供新方向。构建的缺氧响应型 CAR-T 细胞 (5H1P-CEA CAR) 运用了缺氧响应元件 (hypoxia response elements, HREs) 这一关键设计^[38],

使得 CAR 能够在肿瘤特有的缺氧微环境中精准且特异地被激活。在基于患者来源的异种移植模型中,与传统 CAR-T 细胞相比,这种缺氧响应型 CAR-T 细胞显著减少了耗竭表型的出现,并延长了抗肿瘤活性的持续时间。该策略通过时空特异性调控 CAR 表达,为提升胃癌 CAR-T 治疗的安全性与疗效提供了新途径。细胞外基质 (extracellular matrix, ECM),尤其是胶原蛋白成分,通过介导 IL4I1 (interleukin 4 induced 1 protein)-AHR (aryl hydrocarbon receptor) 信号转导路径的激活,对 CAR-T 细胞功能有着关键性影响。具体而言,IL4I1 经由其代谢产物 I3A 与 KynA 作用,诱导 T 淋巴细胞内 AHR 分子的活化状态,这一机制加剧了 CAR-T 细胞的耗竭进程^[39]。鉴于此,针对该信号通路的靶向干预策略,有望为增强 CAR-T 细胞在胃癌治疗中的疗效提供新的契机。

3.5 联合溶瘤病毒治疗策略

溶瘤病毒是一类能够选择性感染并裂解肿瘤细胞的病毒,同时能够诱导机体的抗肿瘤免疫反应。这些病毒可以通过基因工程改造,增强其安全性和肿瘤趋向性,从而更有效地治疗肿瘤。目前,已有研究团队致力于 CAR-T 细胞与溶瘤病毒联合疗法的开发和临床试验。例如,Mayo Clinic 的研究团队通过创新性地让 CAR-T 细胞装载呼肠孤病毒/水泡型口炎病毒,并在黑色素瘤和胶质瘤小鼠模型中进行测试,结果显示这种联合疗法显著增强了 CAR-T 细胞的抗肿瘤效果,并延长了小鼠的生存期^[40]。本课题组基于 II 型单纯疱疹病毒开发出溶瘤病毒 OH2^[41],有较好的广谱抗肿瘤活性和安全性^[42-47],在中、美两地同时开展临床试验,获得快速通道资格和突破性疗法认定。目前 OH2 治疗晚期黑色素瘤患者已进入 III 期临床试验 (NCT05868707)^[48]。本课题组进行了 CAR-T 细胞与 OH2 联合治疗实体瘤的体内和体外研究,结果表明 OH2 可以调节肿瘤微环境,下调抑制性免疫细胞如 Treg、MDSC 等,同时促进 CAR-T 细胞瘤内浸润,与 CAR-T 发挥协同抗肿瘤作用。这些结果为临床试验的开展提供了理论支撑。同时,本课题组构建了表达不同细胞因子的 II 型单纯疱疹病毒^[49,50],希望筛选出能进一步提升 CAR-T 治疗胃癌的新一代溶瘤病毒。

4 结论与展望

CAR-T 细胞疗法在胃癌治疗中的探索已取得阶段性突破,但受限于肿瘤微环境异质性及靶抗原逃逸等问题,其临床转化仍面临多重挑战。未来研

究可从以下维度优化治疗策略。(1) 通过基因编辑技术与定点插入技术对 T 细胞进行修饰,如利用 CRISPR-Cas9 等在基因组的安全位点精确插入 CAR 基因序列,以降低胃癌发病风险并提高 CAR-T 细胞的安全性和有效性^[51]。(2) 新型共刺激结构域开发,如美国爱因斯坦医学院臧星星教授团队报道的 TMIGD2 优化的强效/持久 (TMIGD2 optimized potent/persistent, TOP) CAR-T 细胞疗法,采用全新的共刺激域功能区,使得 CAR-T 细胞在体内的活性得到了显著提升。这种创新设计不仅提高了疗效,还增强了 CAR-T 细胞的安全性^[52]。(3) 人工智能辅助设计 CAR-T,如上海科技大学王峰鹏等团队开发出的人工智能工具 CAR-Toner,通过输入 CAR 的蛋白序列,该工具可以计算衡量 CAR-T 细胞活性的评分,显著缩短新型 CAR 开发周期,并提供优化 CAR-T 设计的方案^[53]。(4) 多维增效技术整合,如第四代 CAR-T 技术整合免疫调控元件 (如膜结合型 TGFβ 受体 II 胞外域、缺氧响应 IL-10 分泌系统) 可重塑肿瘤微环境;双/多靶向系统通过整合逻辑门控型 CAR 设计,可精准识别胃癌异质性群体 (如 CLDN18.2/HER2 双靶向)^[54];光控/小分子诱导开关实现 CAR 活性时空特异性调控^[55]。(5) 联合治疗策略优化开发,比如, CAR-T 细胞与溶瘤病毒 (如本课题组开发的 OH2 病毒) 的联合使用,通过诱导免疫原性细胞死亡 (immunogenic cell death, ICD),释放损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 和病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 信号激活树突状细胞,促进 CAR-T 克隆扩增;重塑肿瘤血管基质,降低间质压力,提升 CAR-T 瘤内渗透效率;改善免疫抑制微环境,逆转 T 细胞耗竭等与 CAR-T 产生协同效应^[56]。希望通过以上治疗策略,为胃癌患者带来更加有效的治疗选择和生存希望。

[参 考 文 献]

- [1] Abreu TR, Fonseca NA, Gonçalves N, et al. Current challenges and emerging opportunities of CAR-T cell therapies. *J Control Release*, 2020, 319: 246-61
- [2] Zhong XS, Matsushita M, Plotkin J, et al. Chimeric antigen receptors combining 4-1BB and CD28 signaling domains augment PI₃kinase/AKT/Bcl-X_L activation and CD8⁺ T cell-mediated tumor eradication. *Mol Ther*, 2010, 18: 413-20
- [3] Abate-Daga D, Lagisetty KH, Tran E, et al. A novel chimeric antigen receptor against prostate stem cell antigen mediates tumor destruction in a humanized mouse

- model of pancreatic cancer. *Hum Gene Ther*, 2014, 25: 1003-12
- [4] Cheng Z, Cui X, Li S, et al. Harnessing cytokines to optimize chimeric antigen receptor-T cell therapy for gastric cancer: current advances and innovative strategies. *Biomed Pharmacother*, 2024, 178: 117229
- [5] Tang L, Pan S, Wei X, et al. Arming CAR-T cells with cytokines and more: innovations in the fourth-generation CAR-T development. *Mol Ther*, 2023, 31: 3146-62
- [6] 马丽雅, 都晓龙, 刘东, 等. 小鼠抗人密封蛋白18剪接变异体2 (Claudin18.2) CAR-T细胞的构建及体外功能验证. *细胞与分子免疫学杂志*, 2024, 40: 605-13
- [7] Jiang H, Shi Z, Wang P, et al. Claudin18.2-specific chimeric antigen receptor engineered T cells for the treatment of gastric cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111: 409-18
- [8] Lee HJ, Hwang SJ, Jeong EH, et al. Genetically engineered CLDN18.2 CAR-T cells expressing synthetic PD1/CD28 fusion receptors produced using a lentiviral vector. *J Microbiol*, 2024, 62: 555-68
- [9] Qi C, Liu C, Gong J, et al. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: phase I trial final results. *Nat Med*, 2024, 30: 2224-34
- [10] Botta GP, Chao J, Ma H, et al. Metastatic gastric cancer target lesion complete response with Claudin18.2-CAR T cells. *J Immunother Cancer*, 2024, 12: e007927
- [11] Cao W, Xing H, Li Y, et al. Claudin18.2 is a novel molecular biomarker for tumor-targeted immunotherapy. *Biomark Res*, 2022, 10: 38
- [12] 赵先群, 方玲, 张向东, 等. 血清CA125、CA724、CEA水平与胃癌临床病理特征的关系研究. *实用癌症杂志*, 2024, 39: 1792-4
- [13] Chen C, Jung A, Yang A, et al. Chimeric antigen receptor-T cell and oncolytic viral therapies for gastric cancer and peritoneal carcinomatosis of gastric origin: path to improving combination strategies. *Cancers*, 2023, 15: 5661
- [14] Zhang C, Wang L, Zhang Q, et al. Screening and characterization of the scFv for chimeric antigen receptor T cells targeting CEA-positive carcinoma. *Front Immunol*, 2023, 14: 1182409
- [15] Chi X, Yang P, Zhang E, et al. Significantly increased anti-tumor activity of carcinoembryonic antigen-specific chimeric antigen receptor T cells in combination with recombinant human IL-12. *Cancer Med*, 2019, 8: 4753-65
- [16] Li D, Guo X, Yang K, et al. EpCAM-targeting CAR-T cell immunotherapy is safe and efficacious for epithelial tumors. *Sci Adv*, 2023, 9: eadg9721
- [17] Yang Y, McCloskey JE, Yang H, et al. Bispecific CAR T cells against EpCAM and inducible ICAM-1 overcome antigen heterogeneity and generate superior antitumor responses. *Cancer Immunol Res*, 2021, 9: 1158-74
- [18] Yang Y, Louie R, Puc J, et al. Chimeric antigen receptor T cell therapy targeting epithelial cell adhesion molecule in gastric cancer: mechanisms of tumor resistance. *Cancers*, 2023, 15: 5552
- [19] Keam B, Ock CY, Kim TM, et al. A phase I study of IMC-001, a PD-L1 blocker, in patients with metastatic or locally advanced solid tumors. *Invest New Drugs*, 2021, 39: 1624-32
- [20] Wang H, Wu Z, Cui D, et al. Triple knockdown of CD11a, CD49d, and PSGL1 in T cells reduces CAR-T cell toxicity but preserves activity against solid tumors in mice. *Sci Transl Med*, 2025, 17: eadl6432
- [21] 孟涛, 曾祥岳, 金博. 靶向HER2和CLDN18.2的并联嵌合抗原受体T细胞降低对胃癌的脱靶效应. *安徽医科大学学报*, 2022, 57: 1595-601
- [22] Williams JZ, Allen GM, Shah D, et al. Precise T cell recognition programs designed by transcriptionally linking multiple receptors. *Science*, 2020, 370: 1099-104
- [23] Kosti P, Opzoomer JW, Larios-Martinez KI, et al. Hypoxia-sensing CAR T cells provide safety and efficacy in treating solid tumors. *Cell Rep Med*, 2021, 2: 100227
- [24] Liu G, Rui W, Zhao X, et al. Enhancing CAR-T cell efficacy in solid tumors by targeting the tumor microenvironment. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18: 1085-95
- [25] Rodriguez-Garcia A, Palazon A, Noguera-Ortega E, et al. CAR-T cells hit the tumor microenvironment: strategies to overcome tumor escape. *Front Immunol*, 2020, 11: 1109
- [26] Majidpoor J, Mortezaee K. Angiogenesis as a hallmark of solid tumors - clinical perspectives. *Cell Oncol*, 2021, 44: 715-37
- [27] He H, Liao Q, Zhao C, et al. Conditioned CAR-T cells by hypoxia-inducible transcription amplification (HiTA) system significantly enhances systemic safety and retains antitumor efficacy. *J Immunother Cancer*, 2021, 9: e002755
- [28] Caruana I, Savoldo B, Hoyos V, et al. Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirected T lymphocytes. *Nat Med*, 2015, 21: 524-9
- [29] Whilding LM, Halim L, Draper B, et al. CAR T-cells targeting the integrin $\alpha\beta6$ and co-expressing the chemokine receptor CXCR2 demonstrate enhanced homing and efficacy against several solid malignancies. *Cancers*, 2019, 11: 674
- [30] Liu G, Rui W, Zheng H, et al. CXCR2-modified CAR-T cells have enhanced trafficking ability that improves treatment of hepatocellular carcinoma. *Eur J Immunol*, 2020, 50: 712-24
- [31] Jin L, Tao H, Karachi A, et al. CXCR1- or CXCR2-modified CAR T cells co-opt IL-8 for maximal antitumor efficacy in solid tumors. *Nat Commun*, 2019, 10: 4016
- [32] Hu JF, Wang ZW, Liao CY, et al. Induced expression of CCL19 promotes the anti-tumor ability of CAR-T cells by increasing their infiltration ability. *Front Immunol*, 2022, 13: 958960
- [33] Nie S, Song Y, Hu K, et al. CXCL10 and IL15 co-expressing chimeric antigen receptor T cells enhance anti-tumor effects in gastric cancer by increasing cytotoxic effector cell accumulation and survival. *Oncoimmunology*, 2024, 13: 2358590
- [34] Allen GM, Frankel NW, Reddy NR, et al. Synthetic cytokine circuits that drive T cells into immune-excluded tumors. *Science*, 2022, 378: eaba1624

- [35] Zhang H, Yu P, Tomar VS, et al. Targeting PARP11 to avert immunosuppression and improve CAR T therapy in solid tumors. *Nat Cancer*, 2022, 3: 808-20
- [36] Zarour HM. Reversing T-cell dysfunction and exhaustion in cancer. *Clin Cancer Res*, 2016, 22: 1856-64
- [37] Chen X, Yang S, Li S, et al. Secretion of bispecific protein of anti-PD-1 fused with TGF- β trap enhances antitumor efficacy of CAR-T cell therapy. *Mol Ther Oncolytics*, 2021, 21: 144-57
- [38] Zhu X, Chen J, Li W, et al. Hypoxia-responsive CAR-T cells exhibit reduced exhaustion and enhanced efficacy in solid tumors. *Cancer Res*, 2024, 84: 84-100
- [39] Zhang X, Zhao Y, Chen X. Collagen extracellular matrix promotes gastric cancer immune evasion by activating IL411-AHR signaling. *Transl Oncol*, 2024, 49: 102113
- [40] 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. *Sci Transl Med*, 2022, 14: eabn2231
- [41] Zhao Q, Zhang W, Ning Z, et al. A novel oncolytic herpes simplex virus type 2 has potent anti-tumor activity. *PLoS One*, 2014, 9: e93103
- [42] Wang Y, Wang R, Hu H, et al. Preclinical safety assessment of an oncolytic herpes simplex virus type 2 expressed PD-L1/CD3 bispecific antibody. *Int Immunopharmacol*, 2023, 124: 110975
- [43] Wu Q, Hu X, Zhang X, et al. Single-cell transcriptomics of peripheral blood reveals anti-tumor systemic immunity induced by oncolytic virotherapy. *Theranostics*, 2022, 12: 7371-89
- [44] 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
- [45] Zhang W, Zeng B, Hu X, et al. Oncolytic herpes simplex virus type 2 can effectively inhibit colorectal cancer liver metastasis by modulating the immune status in the tumor microenvironment and inducing specific antitumor immunity. *Hum Gene Ther*, 2021, 32: 203-15
- [46] Zhang B, Huang J, Tang J, et al. Intratumoral OH2, an oncolytic herpes simplex virus 2, in patients with advanced solid tumors: a multicenter, phase I/II clinical trial. *J Immunother Cancer*, 2021, 9: e002224
- [47] Jin J, Wang R, Yang J, et al. Bispecific antibody expressed by an oncolytic herpes simplex virus type 2 can transform heterologous T cells into uniform tumor killer cells. *Hum Gene Ther*, 2022, 33: 649-63
- [48] Wang X, Tian H, Chi Z, et al. Oncolytic virus OH2 extends survival in patients with PD-1 pretreated melanoma: phase Ia/Ib trial results and biomarker insights. *J Immunother Cancer*, 2025, 13: e010662
- [49] Hu H, Zhang S, Cai L, et al. A novel cocktail therapy based on quintuplet combination of oncolytic herpes simplex virus-2 vectors armed with interleukin-12, interleukin-15, GM-CSF, PD1v, and IL-7 $\times$ CCL19 results in enhanced antitumor efficacy. *Viol J*, 2022, 19: 74
- [50] Cai L, Hu H, Duan H, et al. The construction of a new oncolytic herpes simplex virus expressing murine interleukin-15 with gene-editing technology. *J Med Virol*, 2020, 92: 3617-27
- [51] 伍琦, 王绍波. CRISPR/Cas9技术在CAR-T细胞治疗肿瘤中作用的研究进展. *基础医学与临床*, 2023, 43: 1313-6
- [52] Nishimura CD, Corrigan D, Zheng XY, et al. TOP CAR with TMIGD2 as a safe and effective costimulatory domain in CAR cells treating human solid tumors. *Sci Adv*, 2024, 10: eadk1857
- [53] Qiu S, Chen J, Wu T, et al. CAR-Toner: an AI-driven approach for CAR tonic signaling prediction and optimization. *Cell Res*, 2024, 34: 386-8
- [54] Yue J, Shao S, Zhou J, et al. A bispecific antibody targeting HER2 and CLDN18.2 eliminates gastric cancer cells expressing dual antigens by enhancing the immune effector function. *Invest New Drugs*, 2024, 42: 106-15
- [55] Nguyen NT, Huang K, Zeng H, et al. Nano-optogenetic engineering of CAR T cells for precision immunotherapy with enhanced safety. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16: 1424-34
- [56] Ponterio E, Haas TL, De Maria R. Oncolytic virus and CAR-T cell therapy in solid tumors. *Front Immunol*, 2024, 15: 1455163