专家述评

CAR-T细胞免疫疗法在实体瘤中的研究进展

张淑群，马兴聪，孙诗雨，冯　聪，贾艺玮
西安交通大学第二附属医院 肿瘤病院（西安 710004）

【摘　要】嵌合抗原受体T细胞（chimeric antigen receptor T cell，CAR-T）成功治疗复发难治性白血病的历史已超过十年，如今，已有多款CAR-T细胞疗法获批用于治疗白血病和淋巴瘤等血液系统癌症，标志着免疫细胞治疗时代的到来。大量研究结果提示，CAR-T细胞疗法在实体瘤治疗领域同样充满潜力，但相关临床研究数据却不令人满意。CAR-T细胞疗法在实体瘤中面临靶抗原特异性不足、肿瘤物理屏障、异常代谢及免疫抑制性肿瘤微环境等多重不利因素，需要继续深入相关机制的研究，借助基因工程技术对CAR-T细胞进行改造，进一步提升其对实体瘤的疗效。本文就近年来CAR-T细胞疗法在实体瘤中的研究进展做一述评，探讨未来CAR-T细胞治疗的挑战和发展方向。

【关键词】嵌合抗原受体T细胞；免疫治疗；实体瘤
【中图分类号】R730.5　　文献标志码　A　　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2024.02.002

Research progress of CAR-T cell immunotherapy in solid tumors

ZHANG Shuqun，MA Xingcong，SUN Shiyu，FENG Cong，JIA Yiwei
Department of Oncology，The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University，Xi'an 710004，China

【**Abstract**】Chimeric antigen receptor T cell（CAR-T）therapy has achieved remarkable successes in treating refractory leukemia and other hematologic malignancies in the past ten years. At present，the FDA has approved six CAR-T cell products for hematologic malignancies including leukemia，lymphoma，etc.，highlighting the arrival of the era of immunotherapy and cell therapy for cancer. A large number of studies have indicated the potential of CAR-T cells in solid tumors. However，data from clinical trials was far from satisfactory yet. Obstacles interfering with the therapeutic effects of CAR-T cell therapy in solid tumors have been identified，including lack of reliable tumor-associated antigens，physical barriers within tumors，metabolic stress，immunosuppressive tumor environments，etc. Efforts should be made to further investigate the underlying mechanisms，and gene engineering technologies holds great potential for generation of more effective CAR-T strategies. This review aimed to provide a landscape view of recent progress for CAR-T cell therapy in solid tumors and discussed the challenges and future directions of CAR-T cell therapy.

【**Key words**】Chimeric antigen receptor T cell；Immunotherapy；Solid tumor



专家简介：张淑群，女，西安交通大学第二附属医院肿瘤病院常务副院长兼肿瘤外科主任，肿瘤学系主任，主任医师，教授，医学博士，博士研究生导师，美国MD Anderson癌症研究中心合作博导。2011年教育部新世纪优秀人才。西安交通大学医学部名医、名师。任陕西省卫健委肿瘤质控中心副主任，陕西省抗癌协会第四届乳腺癌专业委员会主任委员，西安市癌症康复协会第一届乳腺癌专业委员会主任委员，中国医药教育协会第二届乳腺疾病专业委员会副主任委员，中国性学会乳腺疾病分会第二届委员会副主任委员，陕西省抗癌协会中西医整合肿瘤专业委员会副主任委员，陕西省医师协会乳腺甲状腺专科医师分会副主任委员等。近5年主持国家自然科学基金面上项目1项，陕西省重点研发项目1项，陕西省中医药管理局科研项目1项，陕西省中医药管理局“中医药重点实验室”建设项目1项。以第一或通信作者发表学术论文60余篇。E-mail：shuqun_zhang1971@163.com

近年来，随着癌症筛查的普及、对早期诊断的重视以及医学治疗手段的进步，全球肿瘤患者的生存率整体呈现持续上升的趋势。然而，恶性肿瘤仍是世界范围内最严峻的公共卫生问题[1]，在中国及美国均为人类疾病死亡的主要病因之一，并且部分癌症的发病率及死亡率并未得到有效控制[2-3]。传统放疗、化疗、靶向治疗等肿瘤治疗手段通常以肿瘤细胞本身为靶点，尽管在肿瘤治疗初期有明显疗效，但随着疾病进展和治疗时间的延长，肿瘤复发及耐药性等问题逐渐突出。因此，开发更有效的抗肿瘤药物及新的治疗手段是科研工作者密切关注的问题。近年来，嵌合抗原受体T细胞（chimeric antigen receptor T cell，CAR-T）疗法作为新兴的免疫治疗手段在肿瘤研究领域及临床治疗中备

基金项目：国家自然科学基金青年项目（82003047）；吴阶平医学基金会（320.6750.2022-19-79）；陕西省中西医结合肿瘤防治重点实验室建设项目（2022-ZXY-SYS-002）
并列第一作者：马兴聪，E-mail：xingcongma_xjtu@163.com
引用本文：张淑群，马兴聪，孙诗雨，等. CAR-T细胞免疫疗法在实体瘤中的研究进展[J].西南医科大学学报，2024，47(2)：98-103.DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2024.02.002

受关注。自2017年以来，美国FDA已批准上市6款用于血液肿瘤的CAR-T细胞产品。CD19 CAR-T细胞疗法适应症包括大B细胞淋巴瘤、急性B淋巴细胞白血病、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤；BCMA CAR-T细胞疗法被获批用于多发性骨髓瘤的治疗。显著的疗效使其快速成为一、二线治疗方法[4-5]。CAR-T细胞疗法在治疗血液肿瘤中的成功证实了这一创新疗法的可行性及巨大应用前景[6]，国内外也开启了研发实体瘤CAR-T细胞疗法的浪潮，希望为癌症患者提供更多的治疗选择。然而，在多数实体肿瘤中，由于缺乏理想靶抗原，同时其肿瘤微环境中存在复杂的免疫抑制因素，导致CAR-T细胞的治疗效果受到影响。继续开发适用于不同实体瘤的新型CAR-T疗法，并探索如何克服其疗效瓶颈具有重要的科学研究及临床意义。

1 CAR-T细胞疗法概述

1.1 CAR-T细胞的设计原理及构造

嵌合抗原受体（chimeric antigen receptors，CARs）是通过基因重组技术获得的融合蛋白，其基本结构包括四个部分：细胞外的靶点结合结构域（ectodomain），铰链区（hinge region），将CAR固定于细胞膜上的跨膜结构域（trans-membrane domain）及转导T细胞激活信号的胞内结构域（endodomain）。结合肿瘤抗原的胞外结构为单链可变片段（single chain variable fragment，scFv），来源于单克隆抗体重链及轻链可变区。因此，表达特定CAR的T细胞可以识别对应scFv来源抗体识别的表面抗原分子。这一结构特点使得除蛋白分子外，糖脂也可成为CAR-T细胞识别的抗原类型，极大地扩展了CAR-T细胞可识别靶点的范围。CAR的胞内信号结构域则来源于TCR复合体及共刺激分子（co-stimulatory molecules）[7]。

第一代CARs的胞内结构域仅包含TCR复合体中的CD3ζ结构域，向T细胞传递活化信号[8]，称为“第一信号（signal 1）”。由于没有共刺激信号的存在，一代CAR-T细胞在体内的增殖能力较差，存活时间短，严重限制了肿瘤治疗效果。FINNEY等[9]在TCR-ζ胞内结构域的基础上增加了共刺激分子CD28的胞内结构域，发现这种CAR-T细胞产生IL-2等细胞因子的水平较一代CAR-T细胞显著增加。这种在一代CAR胞内结构域的基础上增加共刺激信号的CARs称为二代CARs，而这一共刺激信号被称为“第二信号（signal 2）”。除CD28之外，二代CARs的共刺激结构域还可来源于CD27、OX40（CD134）、4-1BB（CD137）、Lck、DNAX-activating protein 10（DAP10）、ICOS等[10]。含有一种以上共刺激分子的CARs称为三代CARs。研究证实了增加了共刺激结构域的二代及三代CAR-T细胞受到抗原激活后，其增殖、长期存活、分泌细胞因子及清除肿瘤的能力显著提升[11]。由于三代CARs的激活阈值相对降低，存在容易导致CAR-T细胞靶向肿瘤以外的正常组织等缺点，现阶段的临床试验更多采用二代CARs。三代CAR-T细胞在功能、安全性方面是否优于二代CAR-T细胞仍需要进一步的研究证据。近年来，研究者们为应对CAR-T治疗中遇到的问题，对其结构进行了一系列的改造。四代CARs在二/三代CARs的基础上，在其胞内结构域增加编码特定细胞因子、趋化因子的基因片段，使CAR-T细胞激活后可组成性或诱导性分泌特定细胞因子，达到刺激T细胞增殖、活化，增强杀伤功能，诱导非特异性抗肿瘤免疫及增加CAR-T细胞瘤内浸润等目的，进一步提升疗效。这类细胞因子包括IL-2、IL-12、IL-15、IL-21、CCL19等[12]。这类CAR-T细胞也被称为“T-cell redirected for universal cytokine-mediated killing（TRUCKs）”或“武装（armored）CAR-T细胞”。目前CARs已经发展至第五代，主要是在诱导细胞因子信号的基础上增加刺激下游信号通路的片段，例如胞内结构域包含IL-2Rb和STAT3结合性酪氨酸-X-X-谷氨酰胺（YXXQ）模体。这一新型CAR-T细胞在受到抗原特异性激活后，可活化JAK激酶和STAT3、STAT5转录因子信号通路。上述信号通路的活化可抑制CAR-T细胞终末表型分化并提升增殖能力；在血液肿瘤及实体瘤的动物模型中，其长期存活及肿瘤杀伤功能较传统CAR-T细胞均显著提升[13]。上述结构优化及功能改造策略使得CAR-T细胞杀伤效率及安全性不断提升，针对不同肿瘤对CARs进行优化设计也是目前非常热门的研究领域[14]。

1.2 CAR-T细胞治疗的临床步骤

临床上，实现有效、规范的CAR-T细胞过继免疫治疗需要完成以下步骤：从患者体内采集到足够数量的外周血T细胞；安全、高效地向T细胞内转入CAR相关基因物质；将基因改造过的T细胞在体外进行扩增，达到临床治疗所需的数量；输入患者体内的治疗性T细胞需要循环至肿瘤部位，并在体内继续扩增，持续存活一定时间，以实现有益的抗肿瘤免疫反应。编码CAR的基因序列通常在T细胞体外扩增的初始阶段由病毒或非病毒载体转运至细胞内。常用病毒载体包括γ逆转录病毒（gamma retrovirus）及慢病毒（lentivirus），它们可将相应的基因序列嵌入宿主细胞基因组，实现转基因的永久表达。非病毒转基因手段包括转座子/转座酶系统（transposon/transposase systems），如Sleeping Beauty，以及RNA电穿孔技术（RNA electroporation）。与病毒载体相比，非病毒载体安全性更高，费用相对便宜，同样可保证高水平、永久性的目的基因表达[15]。为使CAR-T细胞在体外获得良好的扩增状态，一般给予抗CD3抗体联合或不联合共刺激抗体，如抗CD28抗体刺激T细胞，或在培养过程中给予IL-2、IL-

7、IL-12或IL-15等细胞因子。替代方法还包括应用人工APCs，如放射处理后的K562细胞或EBV转化细胞[16]。静脉输注后，CAR-T细胞迅速在体内重新分布。CAR-T细胞可进入骨髓、淋巴结及其他存在其靶点抗原的组织，通过循环募集或细胞增殖在肿瘤组织中聚集。与机体正常T细胞一样，CAR-T细胞受到肿瘤抗原刺激后，获得特异性的免疫记忆并在患者血循环中长期存活。抗CD19 CAR-T细胞在患者血循环中的存在期长达4年[17]。经过不断的优化改进，CAR-T细胞准备及治疗程序逐渐规范，CAR-T细胞输入患者体内后，可循环至肿瘤组织，识别肿瘤抗原并被激活，增殖并释放细胞因子，最终裂解肿瘤细胞，并在患者体内以保持记忆T细胞的特性长期存在，预防肿瘤复发，使治疗效果进一步提升。

2 实体瘤CAR-T细胞治疗面临的挑战

尽管CAR-T细胞在血液系统恶性肿瘤治疗领域取得了一定成就，然而，在多数实体肿瘤中的治疗效果仍不理想。首先，在抗原靶点的选择方面，血液肿瘤的靶抗原多为同质性的，并且在多数肿瘤细胞表面均表达，而实体瘤的肿瘤抗原多为异质性，不仅在同一瘤灶中呈差异分布，甚至在原发肿瘤与转移瘤中的表达都不尽相同。实体瘤理想靶抗原的选择较为困难，直接限制了CAR-T细胞的特异性及有效性。目前，有应用前景的实体肿瘤抗原包括双唾液酸神经节苷脂（disialoganglioside）GD2、表皮生长因子（epidermal growth factor receptor，EGFR）、人表皮生长因子受体2（human epidermal growth factor receptor 2，HER2）、IL-13受体α（IL13Rα）、间皮素（mesothelin，MSLN）、前列腺特异性膜抗原（prostate-specific membrane antigen，PSMA）、粘液素1（Mucin 1，MUC1）等等，靶向上述抗原的CAR-T细胞治疗涵盖的肿瘤类型也较为广泛[18]。上述肿瘤相关抗原特异性相对较低，并且多数抗原在正常组织中也有一定表达，使CAR-T细胞有攻击正常组织的潜在风险。这也是CAR-T治疗实体瘤的主要难点之一[19]。

实体瘤与血液肿瘤差异较大，例如，不同于血液系统肿瘤的“液体肿瘤”环境，实体瘤内部血管生成不足及富于细胞外间质的肿瘤微环境（tumor microenvironment，TME）形成物理屏障，影响CAR-T细胞浸润及肿瘤抗原的识别。此外，成功浸润肿瘤组织的CAR-T细胞发挥免疫效应仍需要克服多种障碍。一方面是代谢障碍，包括TME中的氧化应激、养分剥夺、缺氧状态及异常代谢积累的酸性pH、代谢产物等。另一方面是免疫抑制性因素，包括可溶性的免疫抑制性分子，如二脂酰甘油激酶（diacylglycerol kinase）和SHP-1，抑制性细胞因子如转化生长因子β（transforming growth factor-β，TGF-β）、IL-10等多种细胞因子；免疫检验点信号通路的激活；免疫抑制性细胞，如Tregs、MDSCs、肿瘤相关巨噬细胞（tumor-associated macrophages，TAM）及中性粒细胞（tumor-associated neutrophils，TAN）等，它们不仅对治疗性T细胞的功能产生显著的抑制，同时还通过分泌促血管性、抗炎性因子等来促进肿瘤细胞的增殖、血管新生及迁移[20-21]。最后是T细胞内在的负性调节机制，如免疫抑制性受体（PD-1、LAG-3和TIM-3）或分子的上调，导致T细胞活化抑制甚至功能耗竭[22]。上述因素都是导致CAR-T细胞治疗在实体瘤中的疗效差、临床研究失败的原因。

3 提升实体瘤CAR-T细胞疗效的策略

基于对实体瘤CAR-T细胞治疗不利因素的认识，研究者们尝试通过多种途径对CAR-T细胞进行进一步的基因改造，以提升其疗效。首先是改善CAR-T细胞在实体瘤中的浸润及输送分布。研究发现可以利用趋化因子信号增加CAR-T细胞向肿瘤内部的募集，主要通过基因工程的方法实现趋化因子受体如CCR4、CCR7、CCR8、CXCR1、CXCR6或CX3CR1等[23-28]在CAR-T细胞表面的表达。尽管这一方案非常热门，但仍存在一定风险。非肿瘤灶中也可能存在趋化因子的非特异性结合，导致CAR-T细胞脱离目的路径而在正常组织中聚集，最终靶向正常组织造成损伤。因此，向肿瘤局部环境中递送或在肿瘤内产生特定的趋化因子更为安全，例如，将表达CCL17的腺病毒或编码CCL5的DNA质粒递送至肿瘤内[29]可明显增加CAR-T细胞向肿瘤的浸润，提高疗效及安全性[30]。CAR-T细胞的迁移也有赖于其与血管内皮细胞的粘附强度，而这一过程受到E-选择素（E-selectin）及其配体sialyl Lewis-X（sLeX）信号的调控[31]。E-selectin表达于肿瘤血管内皮，利用糖工程技术上调CAR-T细胞表面sLeX的表达可促进CAR-T细胞向肿瘤内迁移[32]。另外一些研究主要集中在如何削弱实体瘤对CAR-T细胞的物理屏障，这种物理屏障主要是各种细胞外基质（extracellular matrix，ECM）成分。通过基因工程技术使CAR-T细胞表达肝素酶（heparanase，HPSE），可降解ECM并增强CAR-T细胞在间质丰富的实体瘤中的浸润及抗肿瘤效果[33]。除传统静脉注射外，瘤内注射，还包括浆膜腔注射、颅内注射等途径也能不同程度提高CAR-T细胞的浸润效率，毒副反应可因需治疗量的减少而进一步降低。

第二个方面是克服CAR-T细胞在肿瘤内面临的缺氧和代谢压力。缺氧状态下缺氧诱导因子（hypoxia-inducible factor，HIF）活化，并诱导肿瘤细胞或MDSCs的PD-1等免疫抑制蛋白表达，Tregs聚集等，对效应T细胞的功能产生不利影响。而缺氧环境中，T细胞中HIF1的稳定表达可上调糖酵解酶及葡萄糖转运蛋白1

(glucose transporter 1,GLUT-1)的表达,降低氧化磷酸化、增加VEGF的表达,使得CAR-T细胞更好地适应缺氧TME[34]。有研究将HIF-1α的氧敏感结构域嵌入CAR骨架,使得CAR的表达受到环境氧分水平的调节,在缺氧环境中更好地杀伤肿瘤。这类CAR也称为HIF-CAR、HiCAR或HypoxiCAR[35-36]。CAR-T细胞在肿瘤微环境面临的代谢挑战主要有两方面,一是TME中养分不足导致肿瘤细胞代谢异常,进而产生对效应T细胞功能不利的的代谢产物;二是CAR-T细胞进入TME后自身代谢的异常[37]。肿瘤细胞代谢通路的变化,例如葡萄糖剥夺导致过量活性氧(reactive oxygen specimen,ROS)的产生,使CAR-T表达过氧化氢酶(catalase)可增强其抗氧化的能力[38]。肿瘤细胞过度有氧糖酵解会产生大量乳酸,抑制抗肿瘤免疫反应。CAR-T细胞治疗联合氧化还原酶(dehydrogenase,LDH)阻滞有助于提升其抗肿瘤效果[39]。选择性GLUT-1抑制剂如雷帕霉素(rapamycin,也是mTOR信号抑制剂)及二甲双胍可降低肿瘤对葡萄糖的摄取,改善CAR-T细胞代谢[40]。糖酵解代谢增强使得CAR-T倾向于分化为高迁移性、低存活能力的亚群;而氧化磷酸化代谢(oxidative phosphorylation,OXPHOS)为主的CAR-T细胞倾向于分化为迁移及杀伤能力弱而存活能力强的记忆细胞表型[41]。因此,在制备过程中,需要限制CAR-T细胞的糖酵解代谢,如在CAR-T细胞制备体系中加入PI3K/AKT/mTOR通路抑制剂[42];而在进入肿瘤后,应上调其糖酵解代谢水平,途径包括利用CRISPR/Cas9技术抑制TME中TGF-β水平[43-44],或构建表达负性TGF-β受体的CAR-T细胞[45]等。

第三个方面是克服肿瘤微环境中的免疫抑制性因素,主要是干预TME中的免疫抑制性细胞因子及信号通路,增加促炎性细胞因子的释放,去除或重塑TME中的免疫抑制细胞。例如前面提到的四代“armored CAR-T”或“TRUCKs”,使CAR-T细胞表达利于杀伤肿瘤的促炎性细胞因子,例如IL-12、IL-15、IL-18或IL-21等[12]。另一种途径是将CAR-T细胞与表达TNF-α和IL-2的溶瘤腺病毒(OAd-TNF-α-IL-2)相联合,促进CAR-T细胞的浸润及免疫效应,同时还可诱导巨噬细胞向促炎的M1型极化,促进树突状细胞成熟[46-47]。针对PD-1/PD-L1信号对效应T细胞功能的抑制,研究者们提出的策略包括:构建可自主释放靶向PD-1/PD-L1单抗的CAR-T细胞[48];联合应用外源性的PD-1/PD-L1单抗[49];利用CRISPR/ Cas9技术敲除PD-1在CAR-T细胞中的表达[50]等。其他还包括对免疫检验点细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4,CTLA-4)信号的干预。清除TME中的免疫抑制性细胞是改善免疫抑制性TME的另一有效策略。数个I期临床研究中,给予CAR-T治疗患者单用或联合两种化疗药物,如氟达拉滨、白蛋白紫杉醇、环磷酰胺,可实现清除淋巴细胞的目的,提升治疗效果[51-52],但其安全性仍需进一步评估。利用免疫毒素吉妥珠单抗-奥唑米星(Gemtuzumab ozogamicin)或舒尼替尼可清除MDSCs,对CAR-T细胞的疗效起到协同作用[53-54]。

提升实体瘤CAR-T细胞疗效的策略还包括逆转CAR-T细胞功能耗竭;通过靶向多个肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen,TAA),构建共表达和分泌双特异性T细胞衔接子(bi-specific T-cell engagers,BiTEs)的CAR-T细胞[55]等方式解决实体瘤异质性问题。目前上述策略还需要更充分的临床研究数据支持其可行性[56]。

4 实体瘤CAR-T细胞治疗临床研究进展

目前进入临床研究阶段的实体瘤CAR-T细胞采用的TAA种类超过20种[57]。本文选择几个癌种对相关的CAR-T细胞临床研究进行简要介绍与评述。

针对乳腺癌至少有19种可用于构建CAR-T细胞的靶抗原被挖掘,其中靶向12种不同肿瘤相关抗原的22款CAR-T细胞疗法目前已进入临床研究阶段[58]。最常用的抗原靶点包括c-Met、CD171、CEA、成纤维细胞活化蛋白(fibroblast activation protein,FAP)、GD2、MUC-1、EGFR、VEGF-R2等。细胞膜表面酪氨酸激酶c-Met在三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer,TNBC)中的表达率超过50%,并与肿瘤的进展及预后相关。2020年SHAH等[59]报道了采用二代c-Met靶向性CAR-T细胞治疗4例转移性TNBC的I期临床研究(NCT03060356),纳入患者c-Met表达率在40%~100%。其中2例患者获得部分缓解(PR),2例患者疾病稳定(SD),出现1~2度毒性反应,耐受良好。MSLN是一种参与细胞黏附功能的肿瘤分化糖蛋白,目前有多项I/II期临床研究探索MSLN靶向性CAR-T细胞在转移/进展性TNBC中的疗效及安全性(NCT02792114,NCT02414269,NCT01355965,NCT02580747),但目前研究结果尚未见报道。靶向其他抗原的CAR-T治疗临床研究目前多处于招募阶段。前列腺癌可选择的TAA主要是PSMA、前列腺干细胞抗原(prostate stem cell antigen,PSCA)、前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen,PSA)和上皮细胞黏附分子(epithelial cellular adhesion molecule,EpCAM)。一项I期临床研究中,5名前列腺癌患者接受PSMA特异性CAR-T细胞治疗,2名患者获得PR,未观察到明显的抗PSMA或抗CAR毒性反应[60]。其他评估PSMA CAR-T细胞疗效的临床研究(NCT04227275,NCT04249947,NCT04429451)仍在进行中。胶质母细胞瘤中,EGFRvIII、ERBB2/HER2及IL-13受体α2(IL13Rα2)是主要的CAR-T细

胞靶抗原。EGFRvIII在初诊胶质母细胞瘤中的表达率约25% ~ 30%。尽管临床研究中，靶向EGFRvIII的CAR-T细胞未观察到显著的安全性问题，但受试者未获得明显应答反应（NCT02209376，NCT01454596）。另一项评价HER2特异性CAR-T细胞治疗胶质母细胞瘤的效果及安全性的I期临床研究中，16名受试者中有1人获得长达9个月的PR，7人获得SD，并维持了8周至29个月，8人疾病PD。首次注射CAR-T细胞后，患者中位OS为11.1个月（95% *CI*，4.1 ~ 27.2个月）[61]。在神经母细胞瘤中，目前主要的CAR-T治疗策略是针对双唾液酸神经节苷脂（disialoganglioside，GD2）抗原，这是一种在神经母细胞瘤中高表达而在正常组织中低表达或缺失的脂质分子。GD2 CAR-T在临床中的疗效一直存在争议，一项I期临床研究中，11例复发性神经母细胞瘤患儿接受了CAR-T细胞治疗，其中3例获得CR，其中1例在研究结束时（治疗后4年10个月）依然处于无进展的状态。但该CAR-T细胞治疗对其余8例患者显效甚微，仍出现疾病进展或复发[62]。2020年发表了另一项GD2 CAR-T细胞治疗复发难治型神经母细胞瘤的I期临床试验结果，显示没有患者获得客观的临床应答[63]。靶向神经母细胞瘤的CAR-T细胞采用的抗原还包括CD276（B7H3）、GPC2等。从整体临床试验结果来看，目前多数CAR-T细胞在各类实体瘤中的疗效有限，需要进一步验证。

5 小结与展望

CAR-T细胞治疗作为新兴的肿瘤免疫疗法之一，已在血液系统恶性肿瘤中取得了巨大的成功，展示出彻底清除肿瘤细胞的潜能，被认为是最有前景的肿瘤治疗方式之一。然而，与血液系统恶性肿瘤相比，实体瘤的CAR-T细胞免疫治疗面临更多困难及挑战，其治疗的特异性、有效性及安全性都需要进一步提升和验证。在基因工程技术的支持下，CAR-T细胞技术逐渐走向成熟和普及，不断创新的升级改造策略也必将助力攻克CAR-T细胞在实体瘤治疗中面临的瓶颈。预计未来5~10年，更多的CAR-T细胞疗法将获得批准，成为更多癌症患者的治疗选择。

6 参考文献

[1] SIEGEL RL，MILLER KD，WAGLE NS，*et al*. Cancer statistics，2023[J]. CA A Cancer J Clinicians，2023，73(1): 17- 48.
[2] XIA CF，DONG XS，LI H，*et al*. Cancer statistics in China and United States，2022: profiles，trends，and determinants[J]. Chin Med J，2022，135(5): 584-590.
[3] 胡志强，游伟程，潘凯枫，等. 中、美两国癌症流行特征分析——《2023美国癌症统计报告》解读[J]. 科技导报，2023，41(18): 18-28.
[4] LABANIEH L，MACKALL CL. CAR immune cells: design principles，resistance and the next generation[J]. Nature，2023，614(7949): 635-648.
[5] 王莹，徐开林. CAR-T治疗多发性骨髓瘤的进展[J]. 临床内科杂志，2022，39(9): 589-593.
[6] 何爱丽，杨云，王夏曼. CAR-T细胞疗法在难治复发血液肿瘤中的应用与展望[J]. 西南医科大学学报，2023，46(5): 393-399.
[7] CHANG ZL，CHEN YY. CARs: synthetic immunoreceptors for cancer therapy and beyond[J]. Trends Mol Med，2017，23(5): 430-450.
[8] ESHHAR Z，WAKS T，GROSS G，*et al*. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors[J]. Proc Natl Acad Sci USA，1993，90(2): 720-724.
[9] FINNEY HM，LAWSON AD，BEBBINGTON CR，*et al*. Chimeric receptors providing both primary and costimulatory signaling in T cells from a single gene product[J]. J Immunol，1998，161(6): 2791-2797.
[10] RAMOS CA，DOTTI G. Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered lymphocytes for cancer therapy[J]. Expert Opin Biol Ther，2011，11(7): 855-873.
[11] VAN DER STEGEN SJC，HAMIEH M，SADELAIN M. The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors[J]. Nat Rev Drug Discov，2015，14(7): 499-509.
[12] TOKAREW N，OGONEK J，ENDRES S，*et al*. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells[J]. Br J Cancer，2019，120(1): 26-37.
[13] KAGOYA Y，TANAKA S，GUO TX，*et al*. A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects[J]. Nat Med，2018，24(3): 352-359.
[14] 郭菲菲，崔久嵬. CAR-T细胞治疗实体瘤的现存挑战及优化策略[J]. 中国肿瘤临床，2022，49(12): 617-621.
[15] GILL S，MAUS MV，PORTER DL. Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25years in the making[J]. Blood Rev，2016，30(3): 157-167.
[16] NEAL LR，BAILEY SR，WYATT MM，*et al*. The basics of artificial antigen presenting cells in T cell-based cancer immunotherapies[J]. J Immunol Res Ther，2017，2(1): 68-79.
[17] GRUPP SA，KALOS M，BARRETT D，*et al*. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia[J]. N Engl J Med，2013，368(16): 1509-1518.
[18] DAEI SORKHABI A，MOHAMED KHOSROSHAHI L，SARKESH A，*et al*. The current landscape of CAR T-cell therapy for solid tumors: mechanisms，research progress，challenges，and counterstrategies[J]. Front Immunol，2023，14: 1113882.
[19] 何海霞，石华山，陈念永. CAR-T在实体瘤治疗中的抗原选择及其相关临床研究现状[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志，2018，25(4): 414-420.
[20] RODRIGUEZ-GARCIA A，LYNN RC，POUSSIN M，*et al*. CAR-T cell-mediated depletion of immunosuppressive tumor-associated macrophages promotes endogenous antitumor immunity and augments adoptive immunotherapy[J]. Nat Commun，2021，12(1): 877.
[21] 马金燕，杨勇，王昀. CAR-T的发展历程及实体瘤治疗难点[J]. 药学研究，2020，39(9): 531-535.
[22] POOREBRAHIM M，MELIEF J，PICO DE COAÑA Y，*et al*. Counteracting CAR T cell dysfunction[J]. Oncogene，2021，40(2): 421-435.
[23] RAPP M，GRASSMANN S，CHALOUPKA M，*et al*. C-C chemokine receptor type-4 transduction of T cells enhances interaction with dendritic cells，tumor infiltration and therapeutic efficacy of adoptive T cell transfer[J]. Oncoimmunology，2016，5(3): e1105428.
[24] CARLSTEN M，LEVY E，KARAMBELKAR A，*et al*. Efficient mRNA-based genetic engineering of human NK cells with high-affinity CD16 and CCR7 augments rituximab-induced ADCC against lymphoma and targets NK cell migration toward the lymph node-associated chemokine CCL19[J]. Front Immunol，2016，7: 105.
[25] CADILHA BL，BENMEBAREK MR，DORMAN K，*et al*. Combined tumor-directed recruitment and protection from immune suppression enable CAR T cell efficacy in solid tumors[J]. Sci

Adv，2021，7(24)：eabi5781.
[26] ZHANG PF，WANG C，ZHANG L，*et al*. Reversing chemokine/chemokine receptor mismatch to enhance the antitumor efficacy of CAR-T cells[J]. Immunotherapy，2022，14(6)：459-473.
[27] LESCH S，BLUMENBERG V，STOIBER S，*et al*. T cells armed with C-X-C chemokine receptor type 6 enhance adoptive cell therapy for pancreatic tumours[J]. Nat Biomed Eng，2021，5(11)：1246-1260.
[28] SIDDIQUI I，ERRENI M，VAN BRAKEL M，*et al*. Enhanced recruitment of genetically modified CX3CR1-positive human T cells into Fractalkine/CX3CL1 expressing tumors：importance of the chemokine gradient[J]. J Immunother Cancer，2016，4：21.
[29] KANAGAWA N，NIWA M，HATANAKA Y，*et al*. CC-chemokine ligand 17 gene therapy induces tumor regression through augmentation of tumor-infiltrating immune cells in a murine model of preexisting CT26 colon carcinoma[J]. Int J Cancer，2007，121(9)：2013-2022.
[30] TCHOU J，ZHAO YB，LEVINE BL，*et al*. Safety and efficacy of intratumoral injections of chimeric antigen receptor（CAR）T cells in metastatic breast cancer[J]. Cancer Immunol Res，2017，5(12)：1152-1161.
[31] MONDAL N，SILVA M，CASTANO AP，*et al*. Glycoengineering of chimeric antigen receptor（CAR）T-cells to enforce E-selectin binding[J]. J Biol Chem，2019，294(48)：18465-18474.
[32] SACKSTEIN R. The first step in adoptive cell immunotherapeutics：assuring cell delivery via glycoengineering[J]. Front Immunol，2018，9：3084.
[33] CARUANA I，SAVOLDO B，HOYOS V，*et al*. Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirected T lymphocytes[J]. Nat Med，2015，21(5)：524-529.
[34] SCHITO L，SEMENZA GL. Hypoxia-inducible factors：master regulators of cancer progression[J]. Trends Cancer，2016，2(12)：758-770.
[35] LIAO QB，HE H，MAO YY，*et al*. Engineering T cells with hypoxia-inducible chimeric antigen receptor（HiCAR）for selective tumor killing[J]. Biomark Res，2020，8(1)：56.
[36] KOSTI P，OPZOOMER JW，LARIOS-MARTINEZ KI，*et al*. Hypoxia-sensing CAR T cells provide safety and efficacy in treating solid tumors[J]. Cell Rep Med，2021，2(4)：100227.
[37] 樊卓帅，胡泽平. T细胞代谢与过继细胞治疗中的代谢重塑[J]. 中国医学前沿杂志(电子版)，2023(11)：90-96.
[38] LIGTENBERG MA，MOUGIAKAKOS D，MUKHOPADHYAY M，*et al*. Coexpressed catalase protects chimeric antigen receptor-redirected T cells as well as bystander cells from oxidative stress-induced loss of antitumor activity[J]. J Immunol，2016，196(2)：759-766.
[39] MANE MM，COHEN IJ，ACKERSTAFF E，*et al*. Lactate dehydrogenase A depletion alters MyC-CaP tumor metabolism，microenvironment，and CAR T cell therapy[J]. Mol Ther Oncolytics，2020，18：382-395.
[40] MARCHESI F，VIGNALI D，MANINI B，*et al*. Manipulation of glucose availability to boost cancer immunotherapies[J]. Cancers，2020，12(10)：2940.
[41] ZHANG M，JIN X，SUN R，*et al*. Optimization of metabolism to improve efficacy during CAR-T cell manufacturing[J]. J Transl Med，2021，19(1)：499.
[42] BOWERS JS，MAJCHRZAK K，NELSON MH，*et al*. PI3Kδ inhibition enhances the antitumor fitness of adoptively transferred $CD8^+$ T cells[J]. Front Immunol，2017，8：1221.
[43] CATTLEY RT，LEE M，BOGGESS WC，*et al*. Transforming growth factor β（TGF-β）receptor signaling regulates kinase networks and phosphatidylinositol metabolism during T-cell activation[J]. J Biol Chem，2020，295(24)：8236-8251.
[44] 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[J]. 基础医学与临床，2023，43(8)：1313-1316.
[45] Narayan V，Barber-Rotenberg J，Fraietta J，*et al*. A phase I clinical trial of PSMA-directed/TGFb-insensitive CAR-T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. Am Soc Clin Oncol，2021.
[45] NARAYAN V，BARBER-ROTENBERG J，FRAIETTA J，*et al*. A phase I clinical trial of PSMA-directed/TGFβ-insensitive CAR-T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer[J]. J Clin Oncol，2021，39(6)：125.
[46] WATANABE K，LUO YP，DA T，*et al*. Pancreatic cancer therapy with combined mesothelin-redirected chimeric antigen receptor T cells and cytokine-armed oncolytic adenoviruses[J]. JCI Insight，2018，3(7)：99573.
[47] 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.
[48] LI S，SIRIWON N，ZHANG XY，*et al*. Enhanced cancer immunotherapy by chimeric antigen receptor-modified T cells engineered to secrete checkpoint inhibitors[J]. Clin Cancer Res，2017，23(22)：6982-6992.
[49] HOSSEINKHANI N，DERAKHSHANI A，KOOSHKAKI O，*et al*. Immune checkpoints and CAR-T cells：the pioneers in future cancer therapies[J]. Int J Mol Sci，2020，21(21)：8305.
[50] GUO XL，JIANG H，SHI BZ，*et al*. Disruption of PD-1 enhanced the anti-tumor activity of chimeric antigen receptor T cells against hepatocellular carcinoma[J]. Front Pharmacol，2018，9：1118.
[51] HEGDE M，DERENZO CC，ZHANG HM，*et al*. Expansion of HER2-CAR T cells after lymphodepletion and clinical responses in patients with advanced sarcoma[J]. J Clin Oncol，2017，35(15)：10508.
[52] BECERRA CR，HOOF P，PAULSON S，*et al*. Ligand-inducible，prostate stem cell antigen（PSCA）-directed GoCAR-T™ cells in advanced solid tumors：preliminary results from a dose escalation study[J]. Ann Oncol，2018，29：x24.
[53] FULTANG L，PANETTI S，NG M，*et al*. MDSC targeting with Gemtuzumab ozogamicin restores T cell immunity and immunotherapy against cancers[J]. EBioMedicine，2019，47：235-246.
[54] LI HZ，DING JG，LU MM，*et al*. CAIX-specific CAR-T cells and sunitinib show synergistic effects against metastatic renal cancer models[J]. J Immunother，2020，43(1)：16-28.
[55] CHOI BD，YU XL，CASTANO AP，*et al*. CAR-T cells secreting BiTEs circumvent antigen escape without detectable toxicity[J]. Nat Biotechnol，2019，37(9)：1049-1058.
[56] 赵庆，何静，陈全，等. 影响嵌合抗原受体T细胞治疗疗效的因素及其改进策略的研究进展[J]. 中国临床医生杂志，2023，51(11)：1293-1297.
[57] KESHAVARZ A，SALEHI A，KHOSRAVI S，*et al*. Recent findings on chimeric antigen receptor（CAR）-engineered immune cell therapy in solid tumors and hematological malignancies[J]. Stem Cell Res Ther，2022，13(1)：482.
[58] YANG YH，LIU JW，LU C，*et al*. CAR-T cell therapy for breast cancer：from basic research to clinical application[J]. Int J Biol Sci，2022，18(6)：2609-2626.
[59] SHAH PD，HUANG AC，XU XW，*et al*. Phase I trial of autologous RNA-electroporated cMET-directed CAR T cells administered intravenously in patients with melanoma and breast carcinoma[J]. Cancer Res Commun，2023，3(5)：821-829.
[60] JUNGHANS RP，MA QZ，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[J]. Prostate，2016，76(14)：1257-1270.
[61] AHMED N，BRAWLEY V，HEGDE M，*et al*. HER2-specific chimeric antigen receptor-modified virus-specific T cells for progressive glioblastoma：a phase 1 dose-escalation trial[J]. JAMA Oncol，2017，3(8)：1094-1101.
[62] 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[J]. Blood，2011，118(23)：6050-6056.
[63] STRAATHOF K，FLUTTER B，WALLACE R，*et al*. Antitumor activity without on-target off-tumor toxicity of GD2-chimeric antigen receptor T cells in patients with neuroblastoma[J]. Sci Transl Med，2020，12(571)：eabd6169.

（利益冲突：无）

（收稿日期：2023-12-02；修回日期：2023-12-22）