



实体瘤免疫细胞治疗研究前沿与挑战

邢晓芳^{1,2}, 王子凡², 吴名^{1,3}, 姚刚^{1*}

1. 国家自然科学基金委员会医学科学部, 北京 100085;

2. 北京大学肿瘤医院, 北京市肿瘤防治研究所, 北京 100142;

3. 福建医科大学孟超肝胆医院, 福州 350025

* 联系人, E-mail: yaogang@nsfc.gov.cn

2024-04-18 收稿, 2024-07-17 修回, 2024-07-24 接受, 2024-08-20 网络版发表

摘要 嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T, CAR-T)治疗在血液系统肿瘤中显示出的良好效果, 带动了整个免疫细胞疗法的发展, 以T细胞为主的免疫细胞治疗也逐渐迈入实体瘤时代, 但目前仍然面临很多严峻的挑战. 肿瘤异质性、浸润受阻和抑制性免疫微环境仍是目前免疫细胞治疗实体瘤的主要障碍. 随着合成生物学、基因工程技术、高通量测序及生物材料等前沿科学技术的发展, 免疫细胞治疗技术手段也在不断进步, 针对实体瘤免疫细胞治疗的技术瓶颈, 目前研究的重点主要集中在如何提高疗效、增加安全性、拓宽细胞来源等方面, 旨在开发更加安全有效的治疗策略. 本文综述实体瘤免疫细胞治疗领域基础研究的前沿现状、面临的挑战和未来的发展, 以期为本领域的研究提供参考.

关键词 继承性细胞免疫疗法, 肿瘤, 嵌合抗原受体, T细胞受体, 肿瘤浸润淋巴细胞

肿瘤免疫细胞治疗是一种通过利用患者自身或供体的免疫细胞来识别并消灭肿瘤细胞的治疗方法, 通过体外扩增、活化及基因修饰等方法, 激活和调节患者的免疫细胞功能, 使其能够识别和杀伤肿瘤细胞, 从而抑制肿瘤的生长和扩散. 现存的免疫细胞治疗主要包括: 嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T, CAR-T)疗法、T细胞受体工程T细胞(TCR-engineered T, TCR-T)疗法、肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL)疗法、自然杀伤(natural killer, NK)细胞疗法、 $\gamma\delta$ T细胞疗法等. 2017年以来, CAR-T细胞疗法已经在传统化疗耐药的血液恶性肿瘤中展现出良好效果, 革命性地改变了肿瘤治疗模式^[1-4]. 实体瘤方面, 2024年2月16日, 肿瘤浸润淋巴细胞疗法(Lifileucel)获得了美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)的批准上市, 用于对程序性细胞死亡蛋白

1(programmed cell death protein 1, PD1)抗体耐药的黑色素瘤的治疗^[5,6]. 这是TIL疗法的首次获批, 也是第一款获得批准用于治疗实体瘤的T细胞疗法, 意味着细胞治疗迈入了实体瘤时代(图1). 胃肠肿瘤针对CLDN18.2靶点、胶质瘤针对GD2靶点的CAR-T治疗取得了令人鼓舞的结果^[7-9], 针对肿瘤相关抗原(如NY-ESO、MAGE-A3)的TCR-T治疗在滑膜肉瘤、葡萄膜黑色素瘤等疾病中也显示出较为明显的抗肿瘤活性^[10-13]. 然而, 对于大多数实体瘤, 免疫细胞治疗的获益人群比例仍然有限, 主要原因包括实体瘤抗原的高度异质性、抑制性微环境导致的免疫细胞浸润和杀伤能力不足以及可用于治疗的细胞来源有限等等. 近年来, 随着一系列前沿技术的进步, 包括基因工程技术、新兴生物材料及基于高通量单细胞测序的人工智能研究, 提升免疫细胞治疗效果的策略也在不断地优化, 包括基因工

引用格式: 邢晓芳, 王子凡, 吴名, 等. 实体瘤免疫细胞治疗研究前沿与挑战. 科学通报, 2024, 69: 3952–3969

Xing X F, Wang Z F, Wu M, et al. Frontiers and challenges of immune cell therapy research in solid tumors (in Chinese). Chin Sci Bull, 2024, 69: 3952–3969, doi: 10.1360/TB-2024-0428

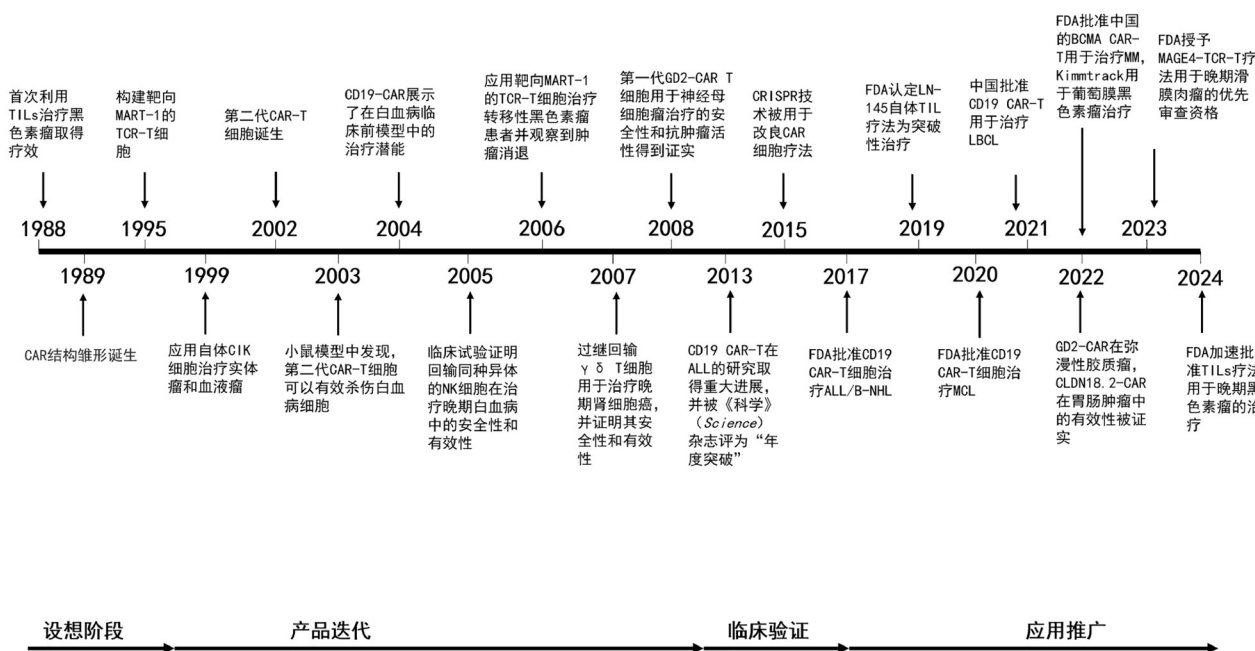


图1 (网络版彩色)肿瘤免疫细胞治疗发展历程

Figure 1 (Color online) Development history of tumor immune cell therapy

程改良、通用型细胞设计、细胞递送方式以及基于个体新抗原的细胞治疗等。本文将总结实体瘤免疫细胞治疗的研究现状、面临的挑战, 展望未来的发展。

1 实体瘤免疫细胞治疗研究现状

1.1 肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL)疗法

TIL疗法是从活检或手术获得的肿瘤组织中分离并培养肿瘤特异性T细胞, 在体外用白介素2(interleukin-2, IL-2)刺激并大量扩增, 然后将其回输到患者体内进行治疗的方法。相对于来源于外周血的淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine-activated killer, LAK)和细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK), TIL直接来源于肿瘤, 含有大量天然的、针对肿瘤特异性抗原的淋巴细胞, 因此具有更强的肿瘤特异性。20世纪80年代初, 该领域的先驱美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)的Rosenberg等人^[14]首次从小鼠肿瘤模型中分离出TIL, 并在结肠癌模型中发现其可使肿瘤转移灶退缩, 为TIL的应用奠定了基础。临床上最早的TIL治疗尝试可追溯到1988年, 对转移性黑色素瘤患者的临床研究取得60%的客观缓解率^[15-17]。然而, TIL疗法的研究并不顺利, 在后来的30多年时间

里, 不断有科学家在这一领域进行探索, 然而都没有取得突破性进展。究其原因, 一方面, 在很长的一段时间内, 肿瘤免疫在基础研究方面进展缓慢, 肿瘤免疫治疗一度并不被看好; 另一方面, TIL疗法需要得到足够数量的肿瘤杀伤性T细胞, 但是晚期肿瘤样本获取难度大, 即便取得肿瘤组织, 能够提取的抗肿瘤T细胞也很有限, 特别是在肿瘤突变负荷较低的“冷”肿瘤类型, 同时TIL制备流程复杂、成本高, 限制了TIL疗法的研究。直到2012年PD-L1(programmed cell death protein ligand-1, 程序性细胞死亡蛋白配体-1)抑制剂治疗多种晚期肿瘤取得出色疗效^[18], 2017年来CAR-T细胞疗法在传统化疗耐药的血液恶性肿瘤(如急性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤和非霍奇金B细胞淋巴瘤等)中展现出良好疗效, 肿瘤免疫治疗革命性地改变了肿瘤的治疗模式^[1,3,19], 随着肿瘤免疫和肿瘤免疫治疗的飞速发展, 针对实体瘤的TIL治疗重新迎来曙光。2019年TIL疗法在转移性HPV相关宫颈癌中客观缓解率达到28%^[20], 2021年在对13例PD1治疗失败的非小细胞肺癌患者进行TIL治疗的研究结果显示, 11例患者肿瘤负荷减低, 2人实现长期完全缓解^[21]。2022年, II期临床试验结果(C-144-01)显示, 对153例PD1/PD-L1抗体治疗无效的晚期黏膜黑色素瘤患者经TIL细胞疗法Lifileucel治疗后的客观缓解率为31.4%, 第1、2、3、4年的总存活

率分别为54.0%、33.9%、28.4%、21.9%，证实其持久的抗肿瘤活性。2024年2月16日，美国FDA加速批准了Lifileucel用于抗PD1/PD-L1治疗后进展的晚期黑色素瘤，这是全球首款获批的TIL疗法，也是首款获批治疗实体瘤的T细胞疗法^[6,22]。除黑色素瘤外，TIL疗法在非小细胞肺癌、头颈肿瘤、宫颈癌等中也观察到较好的疗效^[21,23-25](表1)。

TIL的抗肿瘤效应主要归因于TIL含有多克隆T细胞，它是天然存在于肿瘤微环境中的免疫细胞群体。其中直接发挥杀伤作用的是细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL)，由于TIL在肿瘤内部持续存在，往往具有识别特异性肿瘤抗原的能力，能够天然靶向多种肿瘤抗原，更容易适应实体瘤复杂的肿瘤微环境，甚至具有“归巢”能力，能够迅速到达靶器官。然而，迄今为止观察到的TIL疗效似乎仅限于具有高突变的“热”肿瘤，并且这种疗法高度依赖于从手术样本中获得足够量的TIL细胞，同时细胞提取、培养、功能激活与维持仍存在很大的挑战^[25,29]。另外，由于TIL制备时间

长、制备流程复杂、成本较高，未来还需在提升疗效的同时，保证患者的可及性。

1.2 基因工程改造的T细胞治疗

20世纪80年代末，基因工程技术的进步和发展使改造T细胞受体成为可能，进而推动了基因工程化T细胞用于重定向淋巴细胞以选择性结合肿瘤抗原作为肿瘤治疗新方法的发展。目前，有两种基因修饰T细胞的方法：一种基于嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)，CAR的胞外部分由单链抗原识别受体组成，该受体由单克隆抗体的重链和轻链的可变区域构成，可特异性结合肿瘤表面抗原，胞内部分引入共刺激结构域(CD28或4-1BB)增加肿瘤杀伤效力，延迟T细胞耗竭，提高抗肿瘤效应^[30]。另一种是通过基因工程改造TCR(T cell receptor, T细胞受体)的 α 和 β 链，以主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)呈递方式识别肿瘤抗原，改造后的T细胞能识别细胞内加工的肿瘤相关抗原，而不仅是细胞表面抗原^[31](图2)。

表 1 TIL疗法在实体瘤中的临床研究(部分)^{a)}

Table 1 Clinical studies of TIL therapy in solid tumors (part)

产品	瘤种	状态	分期	其他干预措施	NCT编号	参考文献
LN-145/LN-145-S1	头颈部鳞状细胞癌	完成	2期	NMA-LD、IL-2	NCT03083873	—
LN-145	乳腺癌	完成	2期	NMA-LD、IL-2	NCT04111510	—
NUMARZU-001	三阴性乳腺癌	招募中	1期/2期	—	NCT05451784	—
TILs	黑色素瘤	完成	2期	NMA-LD、IL-2	NCT01807182	—
TILs	黑色素瘤	终止	2期	NMA-LD	NCT01468818	—
TILs	黑色素瘤	完成	2期	Anti-PD-1、NMA-LD、IL-2	NCT01993719	—
TILs	黑色素瘤	终止	2期	NMA-LD、IL-2	NCT02375984	—
GC101	黑色素瘤	招募中	1期/2期	Anti-PD-1、NMA-LD	NCT06120712	—
TILs	黑色素瘤	完成	3期	IL-2	NCT00200577	—
TILs	宫颈癌(HPV相关)	完成	2期	NMA-LD、IL-2	NCT01585428	[26]
LN-145	宫颈癌	招募中	2期	Anti-PD-1、NMA-LD、IL-2	NCT03108495	—
GT202	妇科肿瘤	招募中	1期	NMA-LD、IL-2	NCT05238818	—
MDA-TIL	卵巢癌、结直肠癌、胰腺导管腺癌	进行中, 未招募	2期	NMA-LD、IL-2	NCT03610490	[27]
TILs	肝癌	招募中	1期	NMA-LD、IL-2	NCT06084299	—
TILs	胆管癌	胆管癌	2期	IL-2	NCT03801083	—
TILs	非小细胞肺癌	完成	1期	Anti-PD-1、NMA-LD、IL-2	NCT03215810	[28]
TILs	非小细胞肺癌	未知	1期/2期	辅助化疗(多西他赛、顺铂)	NCT03903887	—
LN-145	非小细胞肺癌	招募中	2期	NMA-LD、IL-2	NCT04614103	—
L-TIL	非小细胞肺癌	招募中	2期	替雷利珠、多西他赛	NCT05878028	—
TILs	非小细胞肺癌	招募中	1期/2期	Anti-PD-1、NMA-LD、IL-2	NCT05681780	—

a) 检索时间: 2024年4月11日

1.2.1 CAR-T疗法研究进展及面临挑战

CAR设计的关键是特异性识别肿瘤细胞表面表达的肿瘤相关抗原,目前CAR-T细胞治疗实体瘤的常见靶点包括:(1)表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)CAR-T细胞治疗可使非小细胞肺癌、胶质瘤、乳腺癌和结直肠癌等不同类型肿瘤患者实现部分缓解^[32~36];(2)针对人表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)阳性肉瘤、胰腺癌、胶质瘤和晚期胆管癌患者的I/II期临床试验中,使用CAR-T细胞治疗取得了较好的效果^[37~39];(3) Claudin 18.2靶向CAR-T细胞治疗胃肠道肿瘤的整体缓解率和疾病控制率分别为57.1%和75.0%,6个月总体生存率为81.2%,并且没有严重不良事件报告^[7];(4)二硫代神经节苷脂(disialoganglioside 2, GD2)和IL-13R α 2在胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)中高表达,这使其成为CAR-T治疗GBM的新靶标^[8,40,41];(5)针对间皮素(mesothelin, MSLN)阳性的恶性胸膜间皮瘤、卵巢癌、胰腺导管腺癌的CAR-T细胞治疗取得良好疗效,并在外周血中观察到MSLN CAR-T细胞的扩增^[42];(6)转移性结直肠癌患者进行靶向癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的CAR-T细胞治疗显示70%患者肿瘤灶出现局部退缩,且无严重不良事件^[43];(7)CD133 CAR-T细胞应用于23例晚期肝细胞癌、胰腺癌及结直肠癌患者,结果显示疾病控制率为65.2%^[44];(8)其他靶点抗原还包括磷脂酰肌醇蛋白聚糖(glypican-3, GPC3)、前列腺特异性膜抗原(prostate-specific membrane antigen, PSMA)、血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2,

VEGF-R2)、Ephrin-A2(EphA2)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体ROR1(receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1)等^[45~48](表2)。由于肿瘤类型和生物学特性的差异,实体瘤对CAR-T疗法的响应也具有明显的差异性,荟萃分析显示CAR-T细胞治疗对实体瘤的综合应答率仅为4%~16%^[49],实体瘤的CAR-T治疗仍然面临多重困境。

首先,实体瘤的高异质性导致有效靶抗原的筛选困难,实体瘤内细胞成分来源复杂、特征多样,低靶抗原表达相关的免疫逃逸是CAR-T疗法的主要限制因素之一。CAR-T细胞治疗后可观察到靶分子的下调和其他亚克隆群体的扩增,导致针对单一靶点的治疗总体疗效非常有限^[32,56]。其次,实体瘤中CAR-T细胞难以浸润到肿瘤组织内部是导致其疗效有限的另一重要原因,晚期实体瘤通常存在纤维化的基质和异常血管生成,导致缺氧和营养物质供应不足,呈抑制性免疫微环境,妨碍CAR-T细胞的浸润和杀伤功能。此外,另一个主要障碍是许多肿瘤细胞表达的抗原也被正常细胞表达,导致了非靶向毒性^[57]。CAR-T治疗还会产生免疫细胞治疗相关的副作用,包括细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、神经递质释放综合征(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS)、神经毒性和移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GvHD)等。另外,清除淋巴细胞治疗本身引起的副作用(如严重感染)、肿瘤裂解综合征等也可能危及患者的生命。作为基因修饰产品,还需要考量病毒载体通过基因组整合或其他机制引起潜在的插入突变而致癌的可能性。截至2023年底,美国FDA报告22例治

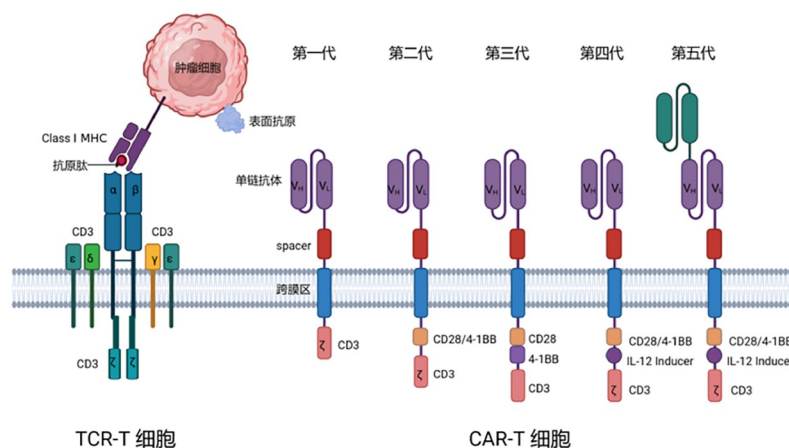


图2 (网络版彩色)基因工程改造的T细胞结构示意图。左: TCR-T细胞; 右: CAR-T细胞

Figure 2 (Color online) Schematic diagram of genetically engineered T cell structures. Left: TCR-T Cells; right: CAR-T Cells

表 2 CAR-T 细胞疗法在实体瘤中的临床研究(部分)^{a)}

Table 2 Clinical studies of CAR-T cell therapy in solid tumors (part)

靶点	癌肿	癌肿	分期	其他干预措施	NCT 编号	参考文献
PD-L1	肺癌	终止	1 期	NMA-LD	NCT03330834	—
PSCA	前列腺癌	进行中, 未招募	1 期	NMA-LD	NCT03873805	[50]
PSMA	前列腺癌	招募中	1 期	NMA-LD	NCT06228404	—
Mesothelin	宫颈癌、胰腺癌、卵巢癌、间皮瘤、肺癌	终止	1 期/2 期	NMA-LD	NCT01583686	—
Mesothelin	实体瘤	招募中	1 期	—	NCT05848999	—
Mesothelin	间皮瘤	招募中	1 期	NMA-LD	NCT04577326	—
VEGFR2	转移癌、转移性黑色素瘤、肾癌	终止	1 期/2 期	NMA-LD、IL-2	NCT01218867	—
EGFRvIII	胶质瘤	完成	1 期/2 期	NMA-LD、IL-2	NCT01454596	[51]
EGFR	非小细胞肺癌	招募中	1 期	—	NCT05060796	—
EGFR/B7H3	肺癌、乳腺癌	招募中	1 期	—	NCT05341492	—
CD70	妇科肿瘤	招募中	1 期	NMA-LD	NCT06215950	—
CD70	肾癌	招募中	1 期	NMA-LD	NCT05420519	—
CD70	实体瘤	招募中	1 期	NMA-LD	NCT05518253	—
CEA	胃癌、结直肠癌、食管癌、胰腺癌等	招募中	1 期/2 期	NMA-LD	NCT06006390	—
CEA	结肠癌肝转移	招募中	1 期	—	NCT05240950	—
CEA	实体瘤	招募中	1 期	NMA-LD	NCT06013111	—
SNC-109	胶质母细胞瘤	招募中	1 期	—	NCT05868083	—
MUC1	乳腺癌	完成	1 期/2 期	—	NCT05812326	—
HER2	实体瘤	招募中	1 期	NMA-LD	NCT06101082	—
HER2	肉瘤	招募中	1 期	Anti-PD-1	NCT04995003	—
HER2	实体瘤	招募中	1 期	—	NCT06254807	—
B7H3	胶质母细胞瘤	招募中	1 期	—	NCT05241392	—
DLL3	肺癌	招募中	1 期	—	NCT05680922	—
Claudin 18.2	胃癌	招募中	1 期	—	NCT06353152	—
Claudin 18.2	胃癌、食管癌、胰腺癌	招募中	1 期	—	NCT05539430	—
Claudin 18.2	胃癌、胰腺癌、卵巢癌	招募中	1 期	—	NCT05472857	—
GPC3	肝细胞癌	完成	1 期	—	NCT03884751	—
GPC3	肝细胞癌	完成	1 期	—	NCT02395250	[52]
GD2	胶质瘤	招募中	1 期	—	NCT05544526	—
GD2	脑瘤	招募中	1 期	NMA-LD	NCT05298995	[53]
GD2	脑瘤	招募中	1 期	—	NCT04099797	[54]
IL13Rα2	胶质瘤	招募中	1 期	—	NCT06355908	—
IL13Rα2	胶质瘤	招募中	1 期	—	NCT05540873	—
IL13Rα2/B7-H3	胶质瘤	招募中	—	—	NCT05752877	—
IL13Rα2	胶质母细胞瘤	招募中	1 期	Anti-CTLA-4、Anti-PD-1	NCT04003649	—
CD133	实体瘤	完成	1 期/2 期	—	NCT02541370	[55]

a) 检索时间: 2024 年 4 月 11 日

疗后继发 T 细胞肿瘤病例, 虽然尚无法明确二者之间的相关性, 但已进行基因测序的 3 个病例中, 可从恶性 T 细

胞克隆中检测到 CAR 转基因, 提示其有可能参与了继发性肿瘤的发生^[58], 据此, FDA 对部分 CAR-T 疗法标签添

加黑框警告,需标注继发肿瘤风险。

1.2.2 TCR-T疗法研究进展及面临挑战

TCR-T更类似于人体天然的T细胞,主要依靠天然的或亲和力优化的TCR识别肿瘤主要组织相容性复合体分子呈递的抗原,通过TCR-CD3复合物传递刺激信号。TCR-T不仅能够识别肿瘤表面的抗原,也能够识别由MHC呈递的膜蛋白和胞内蛋白衍生肽段,虽然受到携带呈递该表位的人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)等位基因的限制,但其可靶向抗原的范围更广。TCR-T细胞对抗原更为敏感,诱导激活所需的表位密度低于传统CAR-T细胞。由于引入的片段是完全人源化的结构,不易引起机体的免疫排斥,TCR-T也更容易进入实体瘤内部。TCR-T疗法选择合适抗原非常重要,理想的抗原应在肿瘤细胞中特异性表达,并能在MHC I类分子的表面上产生表位,新近的临床研究中,TCR-T细胞针对多种肿瘤抗原家族显示出了积极的治疗效果,目前重点关注的两大类肿瘤抗原分别是肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAAs)和肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigens, TSAs)。

TAAs是肿瘤细胞过表达的抗原,主要包括组织分化抗原(tissue differentiation antigens, TDAs)、癌睾抗原(cancer/testis antigens, CGAs),以及其他异常高表达的糖蛋白糖脂等分子。TDAs包括T细胞识别的黑色素瘤抗原(melanoma antigen recognized by T cells 1, MART-1)、糖蛋白100(glycoprotein 100, gp100); CGAs研究主要集中在黑色素瘤相关抗原(melanoma antigen gene-A, MAGE-A)蛋白家族成员和NY-ESO-1;其他异常高表达的糖蛋白糖脂包括癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA),肿瘤相关抗原黏蛋白(mucin 1, MUC-1)等。2024年1月,美国FDA授予了Afami-cel生物制剂许申请的优先审查资格,用于晚期滑膜肉瘤的治疗,这种以MAGEA4为靶点的自体TCR-T细胞疗法疾病控制率88.4%,客观缓解率36.5%,安全性整体可控^[59]。尽管针对以上靶点的TCR-T细胞治疗实体瘤显示出了一定的临床疗效,但由于它们在正常组织中的表达,容易发生多种毒性^[10,11]。

TSAs是与肿瘤生成过程(突变、病毒诱导等)相关的蛋白质,仅由肿瘤细胞表达。由于新抗原的高亲和性T细胞在胸腺负选择过程中不会消除,所以可以从患者肿瘤或健康供体外周血中分离得到。它主要包括三类:(1) 突变相关抗原,这些新抗原是由非同义突变产生的,例如微卫星高不稳定性肿瘤中由于移码突变产生

的新表位,表现出强烈的免疫原性^[60]。(2) 病毒相关抗原,某些肿瘤与病毒感染密切相关,如人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、巨细胞病毒(merkel cell virus, MCV)或EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)相关肿瘤^[61,62]。针对HBV相关肝癌的HBV特异性TCR-T细胞的临床试验显示总体缓解率12.5%^[61]。(3) 源自非编码基因组的新抗原,由异常转录、翻译或翻译后修饰产生,如黑色素瘤新抗原1(melanoma-overexpressed antigen 1, MELOE-1)和黑色素瘤新抗原-2(melanoma-overexpressed antigen 2, MELOE-2)^[63](表3)。

与CAR-T治疗类似,TCR-T细胞治疗障碍主要表现为肿瘤细胞靶抗原的异质性表达以及瘤内抑制性微环境。不同的是,TCR-T细胞疗法的逃逸机制还包括抗原呈递过程的多个因素,例如肿瘤细胞上MHC I类分子的减少或丢失。TCR-T细胞疗法导致的毒性反应主要由于靶抗原在正常组织中的表达,尤其是肿瘤相关抗原^[70],同时使用亲和力增强的TCR-T细胞治疗也可能发生交叉反应引起的“脱靶”毒性^[71]。

1.3 其他天然免疫细胞治疗的研究进展

目前,肿瘤免疫细胞治疗的成功主要源于对适应性免疫系统的激活,然而肿瘤对这些疗法的抵抗往往表现为抗原下调或MHC分子缺陷,从而限制了适应性免疫细胞疗法的效果。因此,研究人员开始针对其他免疫细胞亚群进行工程改造,这些免疫细胞类型包括NK细胞、巨噬细胞、NK T细胞、 $\gamma\delta$ T细胞和树突状细胞等。天然免疫细胞可以通过抗体依赖性细胞毒机制和天然细胞毒性受体以CAR依赖和非CAR依赖的方式来靶向和杀伤肿瘤细胞,可以在目标抗原下调或丧失时继续发挥作用,增强了它们的有效性。此外,固有免疫细胞天然存在于肿瘤组织中,具有浸润不同肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的能力。由于它们不受组织相容性限制,减少了CRS和GvHD的发生风险,同时细胞来源可以更为多样,包括人类胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)等,为开发同种异体疗法提供了应用潜力。

到目前为止,评估天然免疫细胞疗法的临床试验主要集中在血液肿瘤,实体瘤中针对PSMA、MSLN和MUC1等靶点的CAR-NK临床研究正在进行中,涉及瘤种包括胶质母细胞瘤、三阴性乳腺癌、卵巢癌、肝癌

表 3 TCR-T细胞疗法在实体瘤中的临床研究(部分)

Table 3 Clinical studies of TCR-T cell therapy in solid tumors (part)

靶点	瘤种	状态	分期	临床缓解率	其他干预措施	NCT编号	参考文献
MAGE-C2	黑色素瘤、头颈部癌	招募中	1期/2期	—	AZA/VP	NCT04729543	—
MAGE-A4	实体瘤	招募中	1期	—	NMA-LD	NCT06170294	—
MAGE-A3/12	转移性肿瘤	终止	1期/2期	4/9(44.4%)	NMA-LD、IL-2	NCT01273181	—
MAGE-A1	实体瘤	终止	1期/2期	—	—	NCT05430555	[64]
MAGE-A3	宫颈癌、肾癌、黑色素瘤、乳腺癌、尿道癌	完成	1期/2期	3/20(15.0%)	NMA-LD、IL-2	NCT02111850	—
MAGE-A1	三阴性乳腺癌、尿道癌、非小细胞肺癌	终止	1期/2期	0/1(0.0%)	Anti-PD-1、阿替利珠、NMA-LD	NCT04639245	[64]
HPV-E7	宫颈癌	终止	1期	—	—	NCT04476251	—
HPV-E7	口咽癌	终止	2期	—	—	NCT04015336	—
HPV-E7	HPV相关肿瘤	招募中	2期	—	NMA-LD、IL-2	NCT05686226	—
HPV-E7	HPV相关肿瘤	招募中	1期/2期	—	NMA-LD、IL-2	NCT02858310	[65]
HBV抗原	肝细胞癌	招募中	1期	—	—	NCT03899415	[66]
EBV抗原	鼻咽癌	招募中	1期	—	CAR-T	NCT05587543	—
EBV抗原	头颈部鳞癌(EBV阳性)	招募中	1期/2期	—	—	NCT04139057	—
KRAS-G12D	胰腺癌	招募中	1期/2期	—	Anti-PD-1、NMA-LD	NCT04146298	—
KRAS-G12V/G12D	胰腺癌	招募中	1期	—	NMA-LD、IL-2	NCT05438667	—
KK-LC-1	肺癌、实体瘤	招募中	1期	—	—	NCT03778814	—
KK-LC-1	胃癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌	招募中	1期	—	NMA-LD、IL-2	NCT05483491	—
NY-ESO-1	实体瘤	完成	1期	—	NMA-LD、IL-2、anti-PD-1	NCT02775292	[67]
NY-ESO-1	软组织肉瘤	招募中	-	—	—	NCT05620693	—
NY-ESO-1	实体瘤	招募中	1期/2期	—	NMA-LD、IL-2	NCT05296564	—
MART-1	黑色素瘤	完成	2期	6/24(25.0%)	NMA-LD、IL-2	NCT00509288	[68]
MART-1	黑色素瘤	终止	2期	0/4(0.0%)	MART-1疫苗、NMA-LD、IL-2	NCT00612222	—
MART-1	黑色素瘤	终止	2期	0/40(0.0%)	MART-1疫苗、不完全弗氏佐剂、IL-2	NCT00706992	—
gp100	黑色素瘤	终止	2期	4/21(19.0%)	NMA-LD、IL-2	NCT00509496	[69]
gp100	黑色素瘤	终止	2期	1/3(33.3%)	MART-1疫苗、NMA-LD、IL-2	NCT00610311	—
Mesothelin	胰腺导管腺癌	招募中	1期	—	NMA-LD	NCT04809766	—
CEA	转移性肿瘤	终止	1期	—	IL-2	NCT00923806	—

等^[73]针对HER2、GPC3及MSLN的晚期或转移性实体瘤的CAR-M疗法已有数个注册临床试验。目前基于 $\gamma\delta$ T细胞、NK T细胞的临床试验较少。利用天然免疫细胞的主要问题之一是它们在外周血中的数量较少，制备初期需要扩增方案，通常使用细胞因子、抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APCs)或供养细胞进行细胞富集扩增。还有一些细胞很难进行转染，即使使用病

毒载体也是如此。许多细胞在人体内寿命有限，如NK细胞，平均存活时间为两周，虽然可以减少这些细胞的非靶向毒性，但也限制了其功能持久性和抗肿瘤反应的持续性。因此，在对天然免疫细胞改造时，需要重视细胞持久性和细胞毒性之间的平衡。尽管还存在诸多问题，但天然免疫细胞治疗仍为肿瘤免疫细胞疗法开辟了新的方向(表4)。

表 4 T细胞和天然免疫细胞在实体瘤治疗中的特点比较

Table 4 Comparison of characteristics of T cells and natural immune cells in the treatment of solid tumors

	$\alpha\beta$ T 细胞	NK细胞	巨噬细胞	NK T细胞	$\gamma\delta$ T细胞
特征	适应性免疫细胞	天然免疫细胞	天然免疫细胞	天然免疫细胞	天然免疫细胞
机制	通过释放细胞毒性颗粒, 杀伤靶细胞	多种受体介导的不依赖于CAR的细胞毒作用; Fc γ RIII α 介导的细胞毒作用(ADCC)	吞噬功能; 抗原提呈作用	具备T细胞和NK细胞的杀伤机制	Fc γ RIII α 介导的细胞毒作用(ADCC); 抗原呈递作用
活化要求	依赖于MHC分子; 肿瘤特异性抗原肽	不依赖于MHC分子; 识别应激配体(如MICA、MICB)	M1表型: LPS、GM-CSF、IFN- γ 、TNF α 等 M2表型: IL4、IL10、IL13等	不依赖于TCR的结合; 糖磷脂、糖脂或脂质抗原(如 α -半乳糖甘油酰胺)	不依赖于MHC分子; 非肽类代谢物 ^[72]
扩增条件	Anti-CD3, Anti-CD28, IL-2	供养细胞; 多种细胞因子; 抗原递呈细胞	增殖能力有限	IL-2; Anti-CD3	APC; 氨基双磷酸盐; 多种细胞因子; 抗 $\gamma\delta$ TCR抗体; 供养细胞 ^[72]
毒性	CRS毒性、神经毒性以及GvHD	CRS和GvHD的风险低	CRS毒性	研究较少	CRS风险较低
局限性	1.肿瘤异质性和抗原缺失; 2.浸润困难	1.载体转导难; 2.存活期较短	1.载体转导难; 2.需要分化为M1表型	1.数量少; 2.存活期较短; 3.2型NKT细胞具有免疫抑制作用	1.数量少; 2.存活期较短; 3.难以转导或转染;

2 实体瘤免疫细胞治疗优化策略及未来研究方向

肿瘤异质性、浸润受阻和抑制性免疫微环境仍是目前免疫细胞治疗实体瘤的主要障碍, 有限的细胞获取途径也导致应用受阻. 随着合成生物学、基因工程技术、高通量测序及生物材料等前沿科学技术的发展, 下一代免疫细胞技术正在迅速发展, 目前研究的重点主要集中在如何提高疗效、增加安全性、拓宽细胞来源等方面, 旨在开发更加安全有效的治疗策略(图3).

2.1 提高T细胞效力

2.1.1 增加肿瘤浸润

改变免疫细胞回输方式可直接避免瘤内浸润不足的问题. 例如瘤内注射、局部给药或生物材料递送等, 更适用于有限转移倾向的肿瘤, 如间皮瘤或中枢神经系统恶性肿瘤. 将抗IL13R α 2 (interleukin 13 receptor alpha 2) CAR-T细胞通过颅内注射输注到1例复发性胶质母细胞瘤患者瘤灶中, 可观察到明显的肿瘤退缩, 且未观察到严重不良反应^[40]. 对27例恶性胸膜间皮瘤等胸膜恶性肿瘤患者进行局部输注抗MSLN CAR-T细胞联合PD1抑制剂治疗, 8例患者疾病稳定, 一年总生存率达到83%^[42]. 另外, 通过将CAR-T细胞和细胞因子封装在特制的水凝胶中, 可在肿瘤灶中不断“泵出”激活的CAR-T细胞, 持续攻击肿瘤细胞^[74]. 改善肿瘤微环境在

增加免疫细胞浸润中也发挥重要作用, 部分肿瘤缺乏对招募T细胞必要的趋化因子的表达, 通过基因编辑优化T细胞, 使其表达趋化因子受体(chemokine receptor, CCR), 可增强它们进入肿瘤微环境的能力. 例如, 通过引入趋化因子受体CXCR2, CAR-T细胞可以更有效地定向至CXCL1阳性的黑色素瘤细胞^[75].

2.1.2 改善抑制性肿瘤微环境

即使到达肿瘤后, 浸润的T细胞也面临复杂的肿瘤免疫微环境, 包括低营养水平、缺氧、免疫抑制细胞富集, 以及免疫抑制分子和抑制性细胞因子的表达和分泌, 这些因素共同导致T细胞功能障碍, 大大限制其杀伤作用^[56,76,77]. 为了克服这些障碍, 研究人员利用合成生物学设计了更精确的CAR结构. 第四代CAR-T细胞携带了能够分泌免疫刺激因子的结构域, 增加IL-12、IL-18、IL-15等细胞因子的分泌, 改变抑制性免疫微环境, 提高CAR-T细胞的活性, 并招募其他免疫细胞^[78]. 另一种方法是干扰转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路: 调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)通过产生TGF- β 来抑制免疫效应细胞, 通过敲除TGF- β 受体-II(transforming growth factor- β receptor-2, TGFBR2)基因, 减轻Tregs在TME中的抑制作用^[79]. 还有一种策略是定向清除M2巨噬细胞: M2巨噬细胞在TME中具有抗炎和促瘤作用, 有研究利用CAR-T细胞来特异性清除M2巨噬细胞, 如针对叶酸受

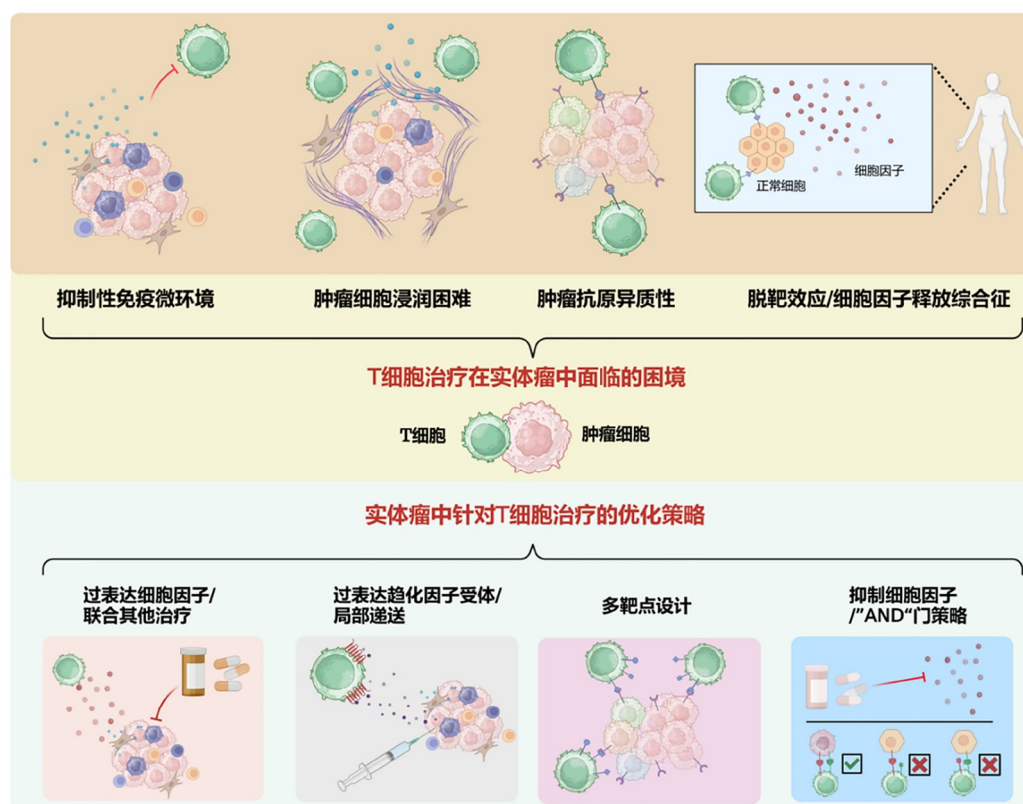


图3 (网络版彩色) T细胞治疗实体瘤面临困境及策略

Figure 3 (Color online) Challenges and strategies of T cell therapy for solid tumors

体 β (folate receptor β , FR β)的CAR-T细胞可特异性清除FR β 阳性的M2巨噬细胞, 动物模型中观察到肿瘤消退和CD8⁺ T细胞的富集^[80]. 同时, 利用CRISPR-Cas9等基因编辑技术, 将免疫抑制信号转化为刺激信号的策略也能进一步抵抗抗炎细胞因子的影响^[81,82].

2.1.3 避免肿瘤抗原逃逸

为了应对肿瘤抗原逃逸的问题, 第五代CAR-T细胞通过改进CAR的结构, 设计多个scFv来识别不同的肿瘤抗原, 以减少抗原逃逸的风险. 其中一种方法是串联CAR(TanCAR): 同一载体中包含两个识别域, 能够识别单个或两个抗原, 实际上也充当了逻辑门中的“or”门. 早期关于同时靶向CD19和ErbB2的双特异性串联CAR研究表明, 它能够识别单一抗原, 并对携带两种抗原的癌细胞进行协同溶解^[83,84]. 另一方面, SynNotch受体平台可实现对CAR-T细胞的编程, SynNotch受体在与抗原A结合后, 通过释放转录因子, 能够继发CAR-T细胞表达靶向抗原B的CAR, 在同时结合两种抗原后细胞才被激活, 这种方法还可以构建多种逻辑门, 实现精准靶向^[85]. TCR-T目前已经开发出多种方法来筛选和

优化TCR候选物, 未来通过TSAs优化选择和T细胞工程改进有望降低TCR-T毒性风险的同时增加抗肿瘤效能. 目前, 有些策略侧重于探究可以被CAR或TCR靶向的肿瘤新抗原或新表位来实现个体化精准治疗^[86], 但即使相同的肿瘤类型, 由于复杂的遗传变异和表观遗传修饰, 肿瘤的遗传指纹也不尽相同, 繁冗复杂的制备流程使得患者可及性受到很大限制.

2.1.4 提高与肿瘤抗原结合的亲和力

在设计TCR的过程中, 筛选高亲和力的TCRs, 并排除非靶向交叉反应非常重要. 由于TCR库的广泛性, TCR与抗原肽-MHC分子复合物(peptide-MHC, pMHC)合体相互作用的特性, 使得鉴定、识别肿瘤特异性表位的TCR过程颇为复杂. 一个TCR能识别高达10⁶个不同表位, 而一个表位也可能被多个TCR所识别^[87]. 有研究通过VDJ(variable, diversity and joining genes)序列测定, 结合ImMunoGeneTics数据库中的参考序列来识别功能性TCR^[88]. 单细胞TCR测序(single cell TCR-seq, scTCR-seq)与深度测序相结合, 可用于识别在抗原刺激后激活的TCR序列, 选择高功能性TCR^[89]. 识别出

TCR序列后,通常会进行载体优化以提高其表达和/或亲和力,新近研究表明TCR表达和组装的高变异性依赖于变异区和恒定区结构界面上的特定残基,在特定位置用最氨基酸替换次优残基提高TCR表达水平的均一化^[90]。通过CRISPR-Cas9技术将TCR转基因在TRAC位点进行敲入(knock in),可提高抗原结合亲和力和降低交叉反应^[91],同时还诱导了有效的受体循环,有助于工程化T细胞的延缓耗竭^[92]。噬菌体展示肽库和免疫系统人源化小鼠也为识别高亲和力TCR提供了筛选平台。尽管如此,提高TCR亲和力也是一把双刃剑^[93],亲和力过强的TCR可能导致T细胞在识别目标抗原后过早耗竭,丧失了持续识别能力;修改TCR序列也可能绕过胸腺负选择,引发与自身抗原意外交叉反应的风险。

2.1.5 增加持久性

T细胞治疗中面临的另一个障碍是工程化T细胞的快速耗竭。大多数T细胞在体外扩展步骤后具有晚期记忆表型,较干细胞样或早期记忆表型的T细胞耗竭更快,杀伤活性持续时间短^[94,95]。一种改善策略是在外周血淋巴细胞中分离中心记忆型或naive T细胞;另一个方法是基于特异性共刺激信号可以促使细胞定向分化的原理,在特定培养条件下维持naive或中心记忆型T细胞的扩增,如CD28可使CD4⁺ T细胞保持中心记忆细胞状态,4-1BB可以促使CD8⁺中心记忆型T细胞的增殖。同时,利用T细胞的干细胞样特性也是有潜力的方式,通过补充IL-7和IL-15,可以促进干细胞记忆表型T细胞(stem cell memory T cells, Tscm)生成,提高T细胞在体内的持久性和长期抗肿瘤效能^[96]。另外,在病毒特异性T细胞中表达CARs也是提高持久性的另一种策略^[97],这些细胞可以在由抗原呈递细胞呈递潜在病毒抗原的情况下,通过它们的T细胞受体与潜伏病毒抗原结合后接受适当的共刺激^[98]。低剂量地西他滨(5-aza-2 deoxycytidine, DAC)处理也可诱发CAR-T细胞重编程,不仅增加持久性,还可以引发有效的记忆反应^[99]。

2.1.6 开发新的治疗模型

研究者还尝试开发新型的TCR样CAR-T细胞(TCR-like CARs)治疗策略。例如合成TCR和抗原受体T细胞(synthetic TCR and antigen receptor T cell, STAR-T)结合了抗体的抗原识别结构域和TCR恒定区,使用内源性CD3信号转导机制,一方面可通过TCR信号激活,另一方面可以直接识别抗原,不受MHC分子限制^[100]。其他方法包括用Fab片段替代TCR $\gamma\delta$ 的可变区域的抗

体-TCR(AbTCR)平台^[101],以及融合scFv到CD3亚单位的TCR融合构建(TRuC)^[102]。近期,美国FDA批准Kimmtrak(tebentafusp-tebn, IMCgp100),用于治疗人类白细胞抗原(human leukocyte antigen)HLA-A*02:01阳性不可切除或转移性葡萄膜黑色素瘤(metastatic uveal melanoma, mUM)成人患者,核心技术抗肿瘤免疫激动单克隆T细胞受体(immune-mobilising monoclonal TCRs against cancer, ImmTAC),由工程化改造的TCR及抗CD3的scFv组成,改造后的TCR能以显著提高的亲和力特异性识别并结合HLA呈递的gp100抗原肽;抗CD3的scFv能够招募T细胞并发挥杀伤作用,Ⅲ期临床试验中显著延长了总生存期(overall survival, OS),死亡风险降低49%,不良事件可控^[103,104]。

2.2 减少治疗毒性

2.2.1 降低非靶向杀伤

目前已经开发了多种策略来降低CRS和神经毒性的风险,包括IL-1R拮抗剂、IL-6阻断、细胞因子粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)中和等^[105]。为了限制T细胞对正常细胞激活的风险,理论上可以应用逻辑门策略,其中T细胞的激活或抑制是由两个信号的整合条件下发生的,在“A NOT B”逻辑门中,CAR-T细胞靶向杀伤特异性表达肿瘤抗原A的肿瘤细胞,那些表达肿瘤细胞上不存在的抗原B的正常细胞,是受到保护的^[106]。另外,研究人员提出了许多诱导工程化T细胞凋亡的方法,以便按需清除T细胞,避免意外不良事件^[107],如经典的caspase-9诱导表达系统,将iCasp9安全开关包含到供体T细胞中,用生物惰性的AP1903化合物激活,诱导T细胞凋亡^[108]。另一种方法是使用代谢开关或抑制CAR-T细胞活性的药物,例如达沙替尼能够阻断淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(lymphocyte-specific protein tyrosine kinase, LCK)的磷酸化,干扰淋巴细胞激活,可作为CAR-T细胞功能的潜在抑制剂^[109]。

2.2.2 下一代基因递送系统

目前工程化T细胞的构建多使用病毒进行基因导入,存在随机整合入基因组中造成转录沉默、细胞癌变等风险。近些年非病毒基因递送策略正快速发展,尤其是基于这种策略实现基因组定点整合的CAR-T细胞作为一种更为安全的方式,越来越受到关注。借助电穿孔技术将编码CRISPR/Cas9系统的dsDNA转导至T细胞中,结合CRISPR/Cas9基因编辑技术优势对T淋巴细

胞中PD1位点精确敲除,并定点插入针对肿瘤细胞的靶向CD19 CAR分子,最终构建完成非病毒性、目的基因定点整合的CAR-T细胞(PD1-19bbz)。这种非病毒性、基因特异性靶向CAR-T细胞在临床试验中展现出良好的安全性和有效性^[110]。尽管这种方法的效率仍然低于病毒载体,但对CISPR技术的改进和小分子抑制剂的配比优化正在进一步提高编辑效率^[110-112]。其他非病毒基因递送策略,如基于纳米递送系统改造的工程化T细胞也显示出巨大应用前景。例如,Stephan等人^[113]基于聚(β -氨基酯)的阳离子聚合物载体系统,实现CAR-DNA或CAR-mRNA在体内的高效递送和CAR-T细胞编程。这种策略与传统实验室体外制造的CAR-T细胞疗效相当,但规避了耗时费力的体外制备过程,并且这种原位诱导的方式也降低了CRS和免疫效应细胞相关神经毒性综合征(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS)等风险^[113]。因此,基于纳米递送系统体内原位生产CAR-T细胞的策略有望发展成为一种经济、安全、高效的免疫细胞治疗新方法。

2.3 扩展细胞来源

2.3.1 通用型细胞供体

目前免疫细胞疗法主要使用来自患者自体的T细胞,存在提取扩增耗时、流程复杂、成本高昂等问题,未来迫切需要开发出具有同种异体潜力的“通用型”细胞替代品。通用型细胞供体具有许多优势,例如产品标准化、使用高效、更容易剂量调整和降低成本等^[114]。临床试验结果表明,使用转录激活物样效应核酸酶(transcription activator-like effector nucleases, TALEN)编辑去除TCR α 链的CAR-T细胞,在B细胞急性淋巴细胞白血病患者中取得了与自体CAR-T细胞相似的结果^[115]。除了原代细胞外,干细胞来源的细胞和永生细胞系也有报道在临床前研究和临床试验中探索应用^[34,81]。

2.3.2 其他免疫细胞亚群

近年来,研究人员从人类胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)分化出具有自我更新能力的NK细胞。与CAR-T细胞相比,源自iPSCs的CAR-NK细胞在体外表现出更强的抗肿瘤活性,但是它们在临床中的适用性仍有待验证^[84]。另一个可能的通用细胞的来源是 $\gamma\delta$ T细胞,它们对目标细胞的识别不依赖于MHC,几乎不存在异体排斥反应的风险,并且可以识

别各种癌细胞上的广泛抗原,降低了单一抗原发生逃避免疫的几率。

2.4 联合治疗策略

肿瘤治疗中往往需要多种手段结合使用,目前在研究免疫细胞治疗的同时,研究人员也关注免疫细胞治疗与其他治疗的联合策略,例如:(1)与化疗联合治疗:低剂量化疗可促进树突状细胞的激活和肿瘤抗原呈递,同时诱导肿瘤相关巨噬细胞分泌趋化因子,改善T细胞浸润,延长存留时间,增强肿瘤细胞敏感性^[116,117]。(2)与放疗联合治疗:放疗可通过诱导凋亡坏死来直接杀死肿瘤细胞,同时诱导树突状细胞的成熟和激活,促进肿瘤抗原呈递,诱导T细胞更多地迁移和浸润到肿瘤内,产生抗肿瘤协同效应^[118]。(3)与溶瘤病毒联合治疗:溶瘤病毒通过破坏实体瘤分子屏障来诱导肿瘤消退,这种效应可以增加T细胞浸润,同时溶瘤病毒可将免疫抑制肿瘤微环境转化为促炎环境,提高了T细胞的增殖和存活能力^[119,120]。(4)与免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)联合治疗:工程改造的T细胞与ICIs的联合治疗,可避免T细胞耗竭。PD-1阻断抗体如果由工程化T细胞自身分泌可以竞争性地结合PD-1,增强T细胞的增殖和细胞毒作用^[121]。(5)微波治疗,光热治疗等联合治疗策略也可以增强肿瘤的免疫原性,诱导抗肿瘤免疫反应^[122,123]。

3 实体瘤免疫细胞治疗研究领域自然科学基金资助概况及研究进展

国家自然科学基金委员会(National Natural Science Foundation of China, NSFC)以支持基础研究为主线,聚焦基础、前沿、人才,着力培育源头创新能力,是中国支持基础研究的主要渠道。通过检索NSFC科学基金网络信息系统,截至目前自然科学基金共计资助免疫细胞治疗领域研究项目696项,总经费37,191.8万元人民币,其中针对实体瘤研究项目329项,经费18,746.6万元人民币。1988年开始陆续有该领域的研究项目获得资助,从1988~2013年的26年间,共计有46项,分散在CTL、CIK、TIL等研究方向。从2014年开始该领域受到越来越多的关注,立项项目也逐渐增加,早期研究热点主要集中在CTL、NK和CAR-T细胞治疗,从2020年开始进入快速发展阶段,立项项目逐年大幅增加,研究方向不仅有CAR-T、TCR-T、TIL、CAR-NK等前沿热点,也包括了CAR-M、NKT、 $\gamma\delta$ T细胞等新

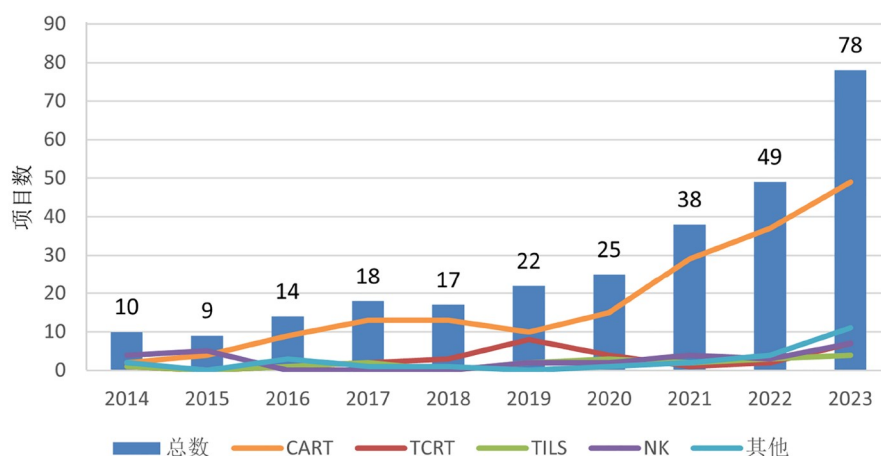


图4 (网络版彩色)2014~2023年实体瘤免疫细胞治疗领域国家自然科学基金资助情况

Figure 4 (Color online) Research projects on immune cell therapy for solid tumors funded by the Natural Science Foundation of China from 2014 to 2023

兴领域和方向(图4)。除了常设项目类型的持续加大支持之外,2023年NSFC医学科学部还设立指南引导类原创探索计划项目“治疗性免疫细胞抗肿瘤的原发性研究”,该原创探索计划项目支持通过发现和鉴定治疗性免疫细胞的关键靶点,或通过干细胞定向分化、体内递送与小分子干预等手段进行免疫细胞重编程,改善免疫细胞的分化与发育,突破通用型免疫细胞关键技术,增强免疫细胞的抗肿瘤效能及功能持久性和安全性,为促进肿瘤免疫细胞治疗研究领域取得新的突破提供支撑。

除了基础研究的高度关注以外,随着企业和社会资本的大量涌入、行业相关政策法规的不断推出,全面的监管体系逐步构建完成,使得中国免疫细胞治疗发展迅速,临床试验数量更是大幅增加,推动了领域的快速发展,取得了一些具有较高水平的原创性研究成果。中国研究团队证实, Claudin 18.2 CAR-T细胞治疗胃肠道肿瘤安全有效,取得CAR-T细胞治疗实体瘤的突破性进展^[7]。该产品CT041于2022年获得美国FDA批准授予“再生医学先进疗法”(regenerative medicine advanced therapy, RMAT)资格^[124]。为避免病毒载体随机整合导致的风险,中国研究人员开发出了非病毒载体定向CAR插入技术^[110]。另外,中国学者自主研发的STAR-T疗法,实现对抗原的识别不受MHC限制,同时保持TCR天然信号通路的传导和级联放大效应,提高

细胞治疗抗肿瘤效力^[100]。新一代串联CD19/CD20 CAR-T细胞疗法也显示出安全有效且可持续的抗肿瘤反应^[84]。

4 小结

肿瘤异质性、浸润受阻和抑制性免疫微环境是免疫细胞治疗面临的主要问题,有限的细胞获取途径也导致应用受限。随着肿瘤免疫领域的快速发展,过表达趋化因子受体及细胞因子,敲除抑制性信号分子、联合治疗等策略已在抵抗免疫抑制性环境等方面取得实质性进展。多靶点串联、逻辑门设计、天然免疫细胞亚群的研究展示了提高安全性的潜力。通用型细胞、非病毒载体和体内递送平台也为未来降低成本和增加细胞来源提供了潜在途径。在未来的研究中,需要通过基础研究的不断深入,多学科交叉融合,促进免疫细胞治疗领域关键问题的解决,包括细胞工程技术的进一步优化、更全面的安全性评估、不同细胞来源的比较研究、治疗相关的标志物识别,以及不同代谢状态下免疫细胞功能评估等。目前,中国免疫细胞治疗实体瘤研究尚处于起步阶段,有待于加强基础理论和技术原理的探索,实现技术瓶颈的突破,还需要充分发挥中国丰富的临床资源优势,畅通基础研究与临床研究的双向转化,推动肿瘤免疫细胞治疗领域取得更大的进步。

致谢 感谢北京大学肿瘤医院沈琳教授在论文撰写过程中给予的宝贵意见。

参考文献

- O'Leary M C, Lu X, Huang Y, et al. FDA approval summary: Tisagenlecleucel for treatment of patients with relapsed or refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Clin Canc Res*, 2019, 25: 1142–1146
- Pasquini M C, Hu Z H, Curran K, et al. Real-world evidence of tisagenlecleucel for pediatric acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv*, 2020, 4: 5414–5424
- Li W, Liu M, Yuan T, et al. Efficacy and follow-up of humanized anti-BCMA CAR-T cell therapy in relapsed/refractory multiple myeloma patients with extramedullary-extraosseous, extramedullary-bone related, and without extramedullary disease. *Hematol Oncol*, 2022, 40: 223–232
- Lu J, Jiang G. The journey of CAR-T therapy in hematological malignancies. *Mol Canc*, 2022, 21: 194
- Andersen R, Borch T H, Draghi A, et al. T cells isolated from patients with checkpoint inhibitor-resistant melanoma are functional and can mediate tumor regression. *Ann Oncol*, 2018, 29: 1575–1581
- Chesney J, Lewis K D, Kluger H, et al. Efficacy and safety of lifileucel, a one-time autologous tumor-infiltrating lymphocyte (TIL) cell therapy, in patients with advanced melanoma after progression on immune checkpoint inhibitors and targeted therapies: Pooled analysis of consecutive cohorts of the C-144-01 study. *J Immunother Canc*, 2022, 10: e005755
- Qi C, Gong J, Li J, et al. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: Phase 1 trial interim results. *Nat Med*, 2022, 28: 1189–1198
- Majzner R G, Ramakrishna S, Yeom K W, et al. GD2-CAR T cell therapy for H3K27M-mutated diffuse midline gliomas. *Nature*, 2022, 603: 934–941
- Liu Z, Zhou J, Yang X, et al. Safety and antitumor activity of GD2-Specific 4SCAR-T cells in patients with glioblastoma. *Mol Canc*, 2023, 22: 3
- Morgan R A, Chinnsamy N, Abate-Daga D, et al. Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy. *J Immunother*, 2013, 36: 133–151
- Robbins P F, Morgan R A, Feldman S A, 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: 917–924
- Hong D S, Van Tine B A, Biswas S, et al. Autologous T cell therapy for MAGE-A4⁺ solid cancers in HLA-A*02⁺ patients: A phase 1 trial. *Nat Med*, 2023, 29: 104–114
- Pan Q, Weng D, Liu J, et al. Phase 1 clinical trial to assess safety and efficacy of NY-ESO-1-specific TCR T cells in HLA-A*02:01 patients with advanced soft tissue sarcoma. *Cell Rep Med*, 2023, 4: 101133
- Rosenberg S A, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*, 1986, 233: 1318–1321
- Dudley M E, Wunderlich J R, Yang J C, et al. Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma. *J Clin Oncol*, 2005, 23: 2346–2357
- Topalian S L, Solomon D, Avis F P, et al. Immunotherapy of patients with advanced cancer using tumor-infiltrating lymphocytes and recombinant interleukin-2: A pilot study. *J Clin Oncol*, 1988, 6: 839–853
- Rosenberg S A, Packard B S, Aebersold P M, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 1988, 319: 1676–1680
- Brahmer J R, Tykodi S S, Chow L Q M, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*, 2012, 366: 2455–2465
- Maude S L, Laetsch T W, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-Cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*, 2018, 378: 439–448
- Stevanović S, Helman S R, Wunderlich J R, et al. A phase II study of tumor-infiltrating lymphocyte therapy for human papillomavirus-associated epithelial cancers. *Clin Canc Res*, 2019, 25: 1486–1493
- Veatch J R, Simon S, Riddell S R. Tumor-infiltrating lymphocytes make inroads in non-small-cell lung cancer. *Nat Med*, 2021, 27: 1339–1341
- Medina T, Chesney J A, Whitman E, et al. Long-term efficacy and patterns of response of lifileucel tumor-infiltrating lymphocyte (TIL) cell therapy in patients with advanced melanoma: A 4-year analysis of the C-144-01 study. *Immuno-Oncol Tech*, 2023, 20: 100591
- Rosenberg S A, Yang J C, Sherry R M, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Canc Res*, 2011, 17: 4550–4557
- Huang H, Nie C, Liu X, et al. Phase I study of adjuvant immunotherapy with autologous tumor-infiltrating lymphocytes in locally advanced cervical cancer. *J Clin Invest*, 2022, 132: e157726
- Rohaam M W, Borch T H, van den Berg J H, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte therapy or ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med*, 2022, 387: 2113–2125
- Malekzadeh P, Pasetto A, Robbins P F, et al. Neoantigen screening identifies broad TP53 mutant immunogenicity in patients with epithelial

- cancers. *J Clin Invest*, 2019, 129: 1109–1114
- 27 Amaria R, Knisely A, Vining D, et al. Efficacy and safety of autologous tumor-infiltrating lymphocytes in recurrent or refractory ovarian cancer, colorectal cancer, and pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Immunother Canc*, 2024, 12: e006822
 - 28 Creelan B C, Wang C, Teer J K, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte treatment for anti-PD-1-resistant metastatic lung cancer: A phase I trial. *Nat Med*, 2021, 27: 1410–1418
 - 29 Zhang C, Sun Y, Li S, et al. Autophagic flux restoration enhances the antitumor efficacy of tumor infiltrating lymphocytes. *J Immunother Canc*, 2022, 10: e004868
 - 30 Sadelain M, Brentjens R, Rivière I. The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Canc Discov*, 2013, 3: 388–398
 - 31 Morgan R A, Dudley M E, Wunderlich J R, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science*, 2006, 314: 126–129
 - 32 O'Rourke D M, Nasrallah M L P, 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
 - 33 Goff S L, Morgan R A, Yang J C, et al. Pilot trial of adoptive transfer of chimeric antigen receptor–transduced T cells targeting EGFRvIII in patients with glioblastoma. *J Immunother*, 2019, 42: 126–135
 - 34 Liu Y, Guo Y, Wu Z, et al. Anti-EGFR chimeric antigen receptor-modified T cells in metastatic pancreatic carcinoma: A phase I clinical trial. *Cytotherapy*, 2020, 22: 573–580
 - 35 Subham S, Jeppson J D, Worcester C, et al. EGFR as a potent CAR T target in triple negative breast cancer brain metastases. *Breast Canc Res Treat*, 2023, 197: 57–69
 - 36 Bagley S J, Logun M, Fraietta J A, et al. Intrathecal bivalent CAR T cells targeting EGFR and IL13Rα2 in recurrent glioblastoma: Phase 1 trial interim results. *Nat Med*, 2024, 30: 1320–1329
 - 37 Ahmed N, Brawley V S, 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: 1688–1696
 - 38 Feng K, Liu Y, Guo Y, et al. Phase I study of chimeric antigen receptor modified T cells in treating HER2-positive advanced biliary tract cancers and pancreatic cancers. *Protein Cell*, 2018, 9: 838–847
 - 39 Vitanza N A, Johnson A J, Wilson A L, et al. Locoregional infusion of HER2-specific CAR T cells in children and young adults with recurrent or refractory CNS tumors: An interim analysis. *Nat Med*, 2021, 27: 1544–1552
 - 40 Brown C E, Alizadeh D, Starr R, et al. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *N Engl J Med*, 2016, 375: 2561–2569
 - 41 Louis C U, 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: 6050–6056
 - 42 Adusumilli P S, Zauderer M G, Rivière I, et al. A phase I trial of regional mesothelin-targeted CAR T-cell therapy in patients with malignant pleural disease, in combination with the anti-PD-1 agent pembrolizumab. *Canc Discov*, 2021, 11: 2748–2763
 - 43 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: 1248–1258
 - 44 Wang Y, Chen M, Wu Z, et al. CD133-directed CAR T cells for advanced metastasis malignancies: A phase I trial. *Oncol Immunology*, 2018, 7: e1440169
 - 45 Junghans R P, 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: 1257–1270
 - 46 Meng S, Li M, Qin L, et al. The onco-embryonic antigen ROR1 is a target of chimeric antigen T cells for colorectal cancer. *Int Immunopharmacol*, 2023, 121: 110402
 - 47 Englisch A, Altvater B, Kailayangiri S, et al. VEGFR2 as a target for CAR T cell therapy of Ewing sarcoma. *Pediatr Blood Canc*, 2020, 67: e28313
 - 48 Kringel R, Lamszus K, Mohme M. Chimeric antigen receptor T cells in glioblastoma—Current concepts and promising future. *Cells*, 2023, 12: 1770
 - 49 Hou B, Tang Y, Li W, et al. Efficiency of CAR-T therapy for treatment of solid tumor in clinical trials: A meta-analysis. *Dis Markers*, 2019, 2019: 1–11
 - 50 Dorff T B, Blanchard M S, Adkins L N, et al. PSCA-CAR T cell therapy in metastatic castration-resistant prostate cancer: A phase 1 trial. *Nat Med*, 2024, 30: 1636–1644
 - 51 Morgan R A, Johnson L A, Davis J L, et al. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRvIII and development of adoptive cell therapy for glioma. *Hum Gene Ther*, 2012, 23: 1043–1053
 - 52 Shi Y, Shi D, Chi J, et al. Combined local therapy and CAR-GPC3 T-cell therapy in advanced hepatocellular carcinoma: A proof-of-concept

- treatment strategy. *Canc Commun*, 2023, 43: 1064–1068
- 53 Ciccone R, Quintarelli C, Camera A, et al. GD2-targeting CAR T-cell therapy for patients with GD2⁺ medulloblastoma. *Clin Canc Res*, 2024, 30: 2545–2557
- 54 Lin F Y, Stuckert A, Tat C, et al. Phase I trial of GD2.CART cells augmented with constitutive interleukin-7 receptor for treatment of high-grade pediatric CNS tumors. *J Clin Oncol*, 2024, 42: 2769–2779
- 55 Dai H, Tong C, Shi D, et al. Efficacy and biomarker analysis of CD133-directed CAR T cells in advanced hepatocellular carcinoma: A single-arm, open-label, phase II trial. *Oncol Immunology*, 2020, 9: 1846926
- 56 Zhai Y, Du Y, Li G, et al. Trogocytosis of CAR molecule regulates CAR-T cell dysfunction and tumor antigen escape. *Sig Transduct Target Ther*, 2023, 8: 457
- 57 Morgan R A, Yang J C, Kitano M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther*, 2010, 18: 843–851
- 58 Verdun N, Marks P. Secondary cancers after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *N Engl J Med*, 2024, 390: 584–586
- 59 Van Tine B A, Ganjoo K N, Blay J Y, et al. The SPEARHEAD-1 trial of afamitresgene autoleucel (afami-cel [formerly ADP-A2M4]): Analysis of overall survival in advanced synovial sarcoma. *J Clin Oncol*, 2023, 41: 11563
- 60 Roudko V, Bozkus C C, Orfanelli T, et al. Shared immunogenic poly-epitope frameshift mutations in microsatellite unstable tumors. *Cell*, 2020, 183: 1634–1649.e17
- 61 Toner K, McCann C D, Bollard C M. Applications of cell therapy in the treatment of virus-associated cancers. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024
- 62 Zhang C, Tan Q, Li S, et al. Induction of EBV latent membrane protein-2A (LMP2A)-specific T cells and construction of individualized TCR-engineered T cells for EBV-associated malignancies. *J Immunother Canc*, 2021, 9: e002516
- 63 Charpentier M, Croyal M, Carbonnelle D, et al. IRES-dependent translation of the long non coding RNA *meloe* in melanoma cells produces the most immunogenic MELOE antigens. *Oncotarget*, 2016, 7: 59704–59713
- 64 Wermke M, Holderried T A W, Luke J J, et al. First-in-human dose escalation trial to evaluate the clinical safety and efficacy of an anti-MAGEA1 autologous TCR-transgenic T cell therapy in relapsed and refractory solid tumors. *J Immunother Canc*, 2024, 12: e008668
- 65 Nagarsheth N B, Norberg S M, Sinkoe A L, et al. TCR-engineered T cells targeting E7 for patients with metastatic HPV-associated epithelial cancers. *Nat Med*, 2021, 27: 419–425
- 66 Meng F, Zhao J, Tan A T, et al. Immunotherapy of HBV-related advanced hepatocellular carcinoma with short-term HBV-specific TCR expressed T cells: Results of dose escalation, phase I trial. *Hepatology*, 2021, 15: 1402–1412
- 67 Frankiw L, Singh A, Peters C, et al. Immunotherapy resistance driven by loss of NY-ESO-1 expression in response to transgenic adoptive cellular therapy with PD-1 blockade. *J Immunother Canc*, 2023, 11: e006930
- 68 Abate-Daga D, Hanada K, Davis J L, et al. Expression profiling of TCR-engineered T cells demonstrates overexpression of multiple inhibitory receptors in persisting lymphocytes. *Blood*, 2013, 122: 1399–1410
- 69 Yao X, Ahmadzadeh M, Lu Y C, et al. Levels of peripheral CD4⁺FoxP3⁺ regulatory T cells are negatively associated with clinical response to adoptive immunotherapy of human cancer. *Blood*, 2012, 119: 5688–5696
- 70 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 Canc Res*, 2014, 20: 2457–2465
- 71 Linette G P, Stadtmauer E A, Maus M V, et al. Cardiovascular toxicity and titin cross-reactivity of affinity-enhanced T cells in myeloma and melanoma. *Blood*, 2013, 122: 863–871
- 72 Sutton K S, Dasgupta A, McCarty D, et al. Bioengineering and serum free expansion of blood-derived $\gamma\delta$ T cells. *Cytotherapy*, 2016, 18: 881–892
- 73 Poon A Y C, Sugimura R. The prospect of genetically engineering natural killer cells for cancer immunotherapy. *Biol Open*, 2022, 11: bio059396
- 74 Grosskopf A K, Labanieh L, Klysz D D, et al. Delivery of CAR-T cells in a transient injectable stimulatory hydrogel niche improves treatment of solid tumors. *Sci Adv*, 2022, 8: eabn8264
- 75 Kershaw M H, Wang G, Westwood J A, et al. Redirecting migration of T cells to chemokine secreted from tumors by genetic modification with CXCR2. *Hum Gene Ther*, 2002, 13: 1971–1980
- 76 Li J, Li W, Huang K, et al. Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) immunotherapy for solid tumors: Lessons learned and strategies for moving forward. *J Hematol Oncol*, 2018, 11: 22
- 77 Zhao L, He R, Long H, et al. Late-stage tumors induce anemia and immunosuppressive extramedullary erythroid progenitor cells. *Nat Med*, 2018, 24: 1536–1544
- 78 Huang Y, Li D, Qin D Y, et al. Interleukin-armed chimeric antigen receptor-modified T cells for cancer immunotherapy. *Gene Ther*, 2018, 25: 192–197
- 79 Tang N, Cheng C, Zhang X, et al. TGF- β inhibition via CRISPR promotes the long-term efficacy of CAR T cells against solid tumors. *JCI Insight*, 2020, 5: e133977

- 80 Rodriguez-Garcia A, Lynn R C, Poussin M, et al. CAR-T cell-mediated depletion of immunosuppressive tumor-associated macrophages promotes endogenous antitumor immunity and augments adoptive immunotherapy. *Nat Commun*, 2021, 12: 877
- 81 Leen A M, Sukumaran S, Watanabe N, et al. Reversal of tumor immune inhibition using a chimeric cytokine receptor. *Mol Ther*, 2014, 22: 1211–1220
- 82 Wang Y, Jiang H, Luo H, et al. An IL-4/21 inverted cytokine receptor improving CAR-T cell potency in immunosuppressive solid-tumor microenvironment. *Front Immunol*, 2019, 10: 1691
- 83 Grada Z, Hegde M, Byrd T, et al. TanCAR: A novel bispecific chimeric antigen receptor for cancer immunotherapy. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2013, 2: e105
- 84 Tong C, Zhang Y, Liu Y, et al. Optimized tandem CD19/CD20 CAR-engineered T cells in refractory/relapsed B cell lymphoma. *Blood*, 2020, 136: 1632–1644
- 85 Roybal K T, Williams J Z, Morsut L, et al. Engineering T cells with customized therapeutic response programs using synthetic notch receptors. *Cell*, 2016, 167: 419–432.e16
- 86 Wang Z, Cao Y J. Adoptive cell therapy targeting neoantigens: A frontier for cancer research. *Front Immunol*, 2020, 11: 176
- 87 Bentzen A K, Such L, Jensen K K, et al. T cell receptor fingerprinting enables in-depth characterization of the interactions governing recognition of peptide–MHC complexes. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 1191–1196
- 88 Arnaud M, Chiffelle J, Genolet R, et al. Sensitive identification of neoantigens and cognate TCRs in human solid tumors. *Nat Biotechnol*, 2022, 40: 656–660
- 89 Lu Y C, Zheng Z, Lowery F J, et al. Direct identification of neoantigen-specific TCRs from tumor specimens by high-throughput single-cell sequencing. *J Immunother Canc*, 2021, 9: e002595
- 90 Thomas S, Mohammed F, Reijmers R M, et al. Framework engineering to produce dominant T cell receptors with enhanced antigen-specific function. *Nat Commun*, 2019, 10: 4451
- 91 Ruggiero E, Carnevale E, Prodeus A, et al. CRISPR-based gene disruption and integration of high-avidity, WT1-specific T cell receptors improve antitumor T cell function. *Sci Transl Med*, 2022, 14: eabg8027
- 92 Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection. *Nature*, 2017, 543: 113–117
- 93 Zhong S, Malecek K, Johnson L A, et al. T-cell receptor affinity and avidity defines antitumor response and autoimmunity in T-cell immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 6973–6978
- 94 Busch D H, Fräßle S P, Sommermeyer D, et al. Role of memory T cell subsets for adoptive immunotherapy. *Semin Immunol*, 2016, 28: 28–34
- 95 Zhang X, Zhang C, Qiao M, et al. Depletion of BATF in CAR-T cells enhances antitumor activity by inducing resistance against exhaustion and formation of central memory cells. *Canc Cell*, 2022, 40: 1407–1422.e7
- 96 Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med*, 2011, 17: 1290–1297
- 97 Pule M A, Savoldo B, Myers G D, et al. Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: Persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma. *Nat Med*, 2008, 14: 1264–1270
- 98 Ahmed N, Brawley V, Hegde M, et al. HER2-specific chimeric antigen receptor–modified virus-specific T cells for progressive glioblastoma. *JAMA Oncol*, 2017, 3: 1094–1101
- 99 Wang Y, Tong C, Dai H, et al. Low-dose decitabine priming endows CAR T cells with enhanced and persistent antitumour potential via epigenetic reprogramming. *Nat Commun*, 2021, 12: 409
- 100 Liu Y, Liu G, Wang J, et al. Chimeric STAR receptors using TCR machinery mediate robust responses against solid tumors. *Sci Transl Med*, 2021, 13: eabb5191
- 101 Xu Y, Yang Z, Horan L H, et al. A novel antibody-TCR (AbTCR) platform combines Fab-based antigen recognition with gamma/delta-TCR signaling to facilitate T-cell cytotoxicity with low cytokine release. *Cell Discov*, 2018, 4: 62
- 102 Baeuerle P A, Ding J, Patel E, et al. Synthetic TRuC receptors engaging the complete T cell receptor for potent anti-tumor response. *Nat Commun*, 2019, 10: 2087
- 103 Nathan P, Hassel J C, Rutkowski P, et al. Overall survival benefit with Tebentafusp in metastatic uveal melanoma. *N Engl J Med*, 2021, 385: 1196–1206
- 104 Hassel J C, Piperno-Neumann S, Rutkowski P, et al. Three-year overall survival with Tebentafusp in metastatic uveal melanoma. *N Engl J Med*, 2023, 389: 2256–2266
- 105 Sterner R M, Sakemura R, Cox M J, et al. GM-CSF inhibition reduces cytokine release syndrome and neuroinflammation but enhances CAR-T cell function in xenografts. *Blood*, 2019, 133: 697–709
- 106 Savanur M A, Weinstein-Marom H, Gross G. Implementing logic gates for safer immunotherapy of cancer. *Front Immunol*, 2021, 12: 780399
- 107 Zhao Q, Jiang Y, Xiang S, et al. Engineered TCR-T cell immunotherapy in anticancer precision medicine: Pros and cons. *Front Immunol*, 2021,

- 12: 658753
- 108 Di Stasi A, Tey S K, Dotti G, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N Engl J Med*, 2011, 365: 1673–1683
- 109 Mestermann K, Giavridis T, Weber J, et al. The tyrosine kinase inhibitor dasatinib acts as a pharmacologic on/off switch for CAR T cells. *Sci Transl Med*, 2019, 11: 499
- 110 Zhang J, Hu Y, Yang J, et al. Non-viral, specifically targeted CAR-T cells achieve high safety and efficacy in B-NHL. *Nature*, 2022, 609: 369–374
- 111 Shy B R, Vykunta V S, Ha A, et al. High-yield genome engineering in primary cells using a hybrid ssDNA repair template and small-molecule cocktails. *Nat Biotechnol*, 2023, 41: 521–531
- 112 Ling X, Chang L, Chen H, et al. Efficient generation of locus-specific human CAR-T cells with CRISPR/cCas12a. *STAR Protocols*, 2022, 3: 101321
- 113 Smith T T, Stephan S B, Moffett H F, et al. *In situ* programming of leukaemia-specific T cells using synthetic DNA nanocarriers. *Nat Nanotech*, 2017, 12: 813–820
- 114 Depil S, Duchateau P, Grupp S A, et al. ‘Off-the-shelf’ allogeneic CAR T cells: Development and challenges. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19: 185–199
- 115 Benjamin R, Graham C, Yallop D, et al. Genome-edited, donor-derived allogeneic anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in paediatric and adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: Results of two phase 1 studies. *Lancet*, 2020, 396: 1885–1894
- 116 Srivastava S, Furlan S N, Jaeger-Ruckstuhl C A, et al. Immunogenic chemotherapy enhances recruitment of CAR-T cells to lung tumors and improves antitumor efficacy when combined with checkpoint blockade. *Canc Cell*, 2021, 39: 193–208.e10
- 117 Klapdor R, Wang S, Hacker U, et al. Improved killing of ovarian cancer stem cells by combining a novel chimeric antigen receptor–based immunotherapy and chemotherapy. *Hum Gene Ther*, 2017, 28: 886–896
- 118 Weiss T, Weller M, Guckenberger M, et al. NKG2D-based CAR T cells and radiotherapy exert synergistic efficacy in glioblastoma. *Canc Res*, 2018, 78: 1031–1043
- 119 Ma R, Lu T, Li Z, et al. An oncolytic virus expressing IL15/IL15 α combined with off-the-shelf EGFR-CAR NK cells targets glioblastoma. *Canc Res*, 2021, 81: 3635–3648
- 120 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
- 121 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: 3130–3144
- 122 Cao B, Liu M, Wang L, et al. Remodelling of tumour microenvironment by microwave ablation potentiates immunotherapy of AXL-specific CAR T cells against non-small cell lung cancer. *Nat Commun*, 2022, 13: 6203
- 123 Chen Q, Hu Q, Dukhovlina E, et al. Photothermal therapy promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR T cells. *Adv Mater*, 2019, 31: e1900192
- 124 CARsgen Therapeutics Co. Ltd. CARsgen therapeutics receives IND clearance from the US FDA for CT041 CLDN18.2-CAR-T cells. 2020, <https://www.prnewswire.com/newsreleases/carsgen-therapeutics-receives-ind-clearance-from-the-us-fdafor-ct041-cldn18-2-car-t-cells-301060555.html>

Summary for “实体瘤免疫细胞治疗研究前沿与挑战”

Frontiers and challenges of immune cell therapy research in solid tumors

Xiaofang Xing^{1,2}, Zifan Wang², Ming Wu^{1,3} & Gang Yao^{1*}

¹ Department of Health Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085, China;

² Department of Gastrointestinal Cancer Center, Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing 100142, China;

³ Mengchao Hepatobiliary Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China

* Corresponding author, E-mail: yaogang@nsfc.gov.cn

Tumor immune cell therapy employs activated and modulated patient or donor immune cells to recognize and kill tumor cells, thereby inhibiting tumor growth and spread. Currently, the main forms of immune cell therapy include chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T), T-cell receptor-engineered T-cell (TCR-T), tumor-infiltrating lymphocyte (TIL), and natural killer (NK) cell therapies. The success of CAR-T therapy in hematological malignancies has accelerated the development of T-cell-based immune cell therapies for solid tumors. Recently, Lifileucel was granted accelerated approval by the FDA for patients with melanoma, marking the first approved TIL therapy and the first T-cell therapy approved for solid tumors. Moreover, CAR-T therapy targeting CLDN18.2 has exhibited promising efficacy in gastrointestinal tumors, and GD2-targeting CAR-T therapy has obtained encouraging results in gliomas, while TCR-T therapy targeting tumor-associated antigens (including NY-ESO and MAGE-A3) has demonstrated significant antitumor activity in diseases such as synovial sarcoma and uveal melanoma. However, the effective response rate and beneficiary population of immune cell therapy remain limited in most solid tumors, owing to tumor antigen heterogeneity, infiltration obstacles, suppressive immune microenvironments, and limited cell source availability. With advancements in scientific and technological approaches such as synthetic biology, genetic engineering, high-throughput sequencing, and the development of biomaterials, next-generation immune cell technologies are rapidly evolving to enhance efficacy, safety, and cell source expansion. Overexpression of chemokine receptors and cytokines, knockout of immune inhibitory signaling molecules, and combination therapies such as chemotherapy, radiotherapy, and immune checkpoint blockade have made substantial progress in improving the immunosuppressive environment. Research on multi-target tandem, Boolean logic designs, and innate immune cells has shown the potential for enhancing safety. Universal cells, nonviral vectors, and *in vivo* delivery platforms also present possibilities for reducing costs and increasing cell sources in the future. This review systematically summarizes the research progress and main challenges of immune cell therapy in solid tumors and suggests future research directions. Through continuous in-depth basic research, interdisciplinary and innovative integration, and leveraging China's abundant clinical resources to facilitate bidirectional transformation between basic research and clinical studies, greater progress and development in the field of immune cell therapy for solid tumors are expected.

adoptive cell immunotherapy, tumor, chimeric antigen receptor, T-cell receptor, tumor infiltrating lymphocyte

doi: [10.1360/TB-2024-0428](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0428)