

CAR-T新型联用策略治疗实体瘤研究进展

李梦媛¹, 蒋小猛², 孙沁怡¹, 郭薇^{1*}

(¹中国药科大学 生命科学与技术学院,南京 210009; ²南京医科大学逸夫医院消化内科,南京 211112)

摘要 近年来,嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)疗法在血液肿瘤的治疗中取得了突破性进展,但是在实体瘤的治疗中仍然存在着诸多问题,例如CAR-T细胞渗透性差,易发生T细胞耗竭现象、脱靶效应等,故实体瘤的CAR-T疗法需要提出新的治疗策略来提升治疗效果。与单一CAR-T治疗方式相比,CAR-T联合其他肿瘤治疗手段已经在临床前及临床研究中展现出优异疗效。本篇综述总结了CAR-T联用不同肿瘤治疗方法:抗体药物、溶瘤病毒、肿瘤疫苗、纳米药物应对实体瘤治疗的研究进展,以期为开发新的CAR-T联用策略治疗实体瘤提供理论依据和新思路。

关键词 嵌合抗原受体T细胞;实体瘤;抗体药物;溶瘤病毒;肿瘤疫苗;纳米药物

中图分类号 R730.51 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2023)04-0443-07

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023030101

引用本文 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.

Cite this article as: LI Mengyuan, JIANG Xiaomeng, SUN Qinyi, et al. Research progress of CAR-T immunotherapy in solid tumors combined with new strategies[J]. J China Pharm Univ, 2023, 54(4):443–449.

Research progress of CAR-T immunotherapy in solid tumors combined with new strategies

LI Mengyuan¹, JIANG Xiaomeng², SUN Qinyi¹, GUO Wei^{1*}

¹School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198;

²Department of Gastroenterology, Sir Run Run Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 211112, China

Abstract In recent years, the chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy has achieved breakthrough progress in the treatment of hematologic malignancies. However, when it comes to solid tumors, numerous challenges persist. These include limited CAR-T cell infiltration, susceptibility to T cell exhaustion, off-target effects, and more. Thus, novel therapeutic strategies are imperative to enhance the efficacy of CAR-T therapy for solid tumors. In comparison to standalone CAR-T approaches, the combination of CAR-T with other tumor treatment modalities has demonstrated remarkable effectiveness in both preclinical and clinical research. This review article summarizes the advancements in combining CAR-T with various solid tumor treatments: antibody drugs, oncolytic viruses, tumor vaccines, and nanomedicines. The objective is to furnish a theoretical foundation and novel perspectives for the development of innovative CAR-T combination strategies tailored for solid tumor therapy.

Key words chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T); solid tumor; antibody drugs; oncolytic virus; cancer vaccine; nano-medicine

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81973221) and Chinese Foundation for Hepatitis Prevention and Control – TianQing Liver Disease Research Fund Project (No. TQGB20210089).

CAR-T疗法已在个性化肿瘤治疗中取得突破性进展,并且在血液系统恶性肿瘤的治疗中显示出

优异的治疗效果,因此被认为是最有前景的肿瘤治疗方式之一。目前全球已有9款CAR-T细胞治疗

产品上市,其中6款靶向CD19,3款靶向BCMA,这些靶点主要针对的适应证有急性白血病、B细胞淋巴瘤、多发性骨髓瘤等^[1]。尽管CAR-T治疗血液肿瘤取得了巨大进展,但其在治疗实体瘤中仍然存在诸多挑战,例如:T淋巴细胞在肿瘤组织中浸润效果差、CAR-T在致密的实体瘤中转运困难、特异性抗原稀缺及免疫逃逸发生、肿瘤免疫微环境(tumor microenvironment, TME)中的不利因素导致CAR-T细胞作用受限等^[2]。研究者针对这些问题已经开发了多种CAR-T改造策略,如:设计细胞因子分泌型CAR-T以增强T细胞的持久性,设计多靶点CAR分子防止抗原免疫逃逸发生、设计靶向基质细胞的CAR分子以去除TME中的抑制因素、优化给药策略来提高CAR-T细胞递送效率^[3],但是仅仅单用CAR-T的研究进程缓慢。随着多种新型肿瘤免疫治疗方法和纳米材料技术的发展,利用不同治疗方法和技术手段的优势可以有效解决CAR-T存在的弊端从而显著提升实体瘤的治疗效果,所以开发CAR-T新型联用策略对实体瘤的治疗意义重大。本文讨论了CAR-T细胞治疗实体瘤现存的挑战,针对这些问题总结了CAR-T联用其他肿瘤治疗方法:抗体药物、溶瘤病毒、肿瘤疫苗、纳米材料应用于实体瘤治疗的研究进展,旨在帮助相关研究人员从多角度了解CAR-T的研发策略,为开发新的CAR-T联合用药策略提供思路,从而推动CAR-T药物在实体瘤临床应用的快速发展。

1 CAR-T治疗实体瘤面临的挑战

1.1 CAR-T浸润效果差、转运困难

血液肿瘤和实体瘤的不同在于血液肿瘤不会形成组织结构,但是实体瘤具有特殊的组织病理学特征,主要表现为:血管组织丰富、血管壁间较宽、结构完整性差、淋巴回流缺失以及大分子药物的选择性外渗和保留,这一现象被称为高通透性和滞留效应(enforced permeability and retention effect, EPR),是影响CAR-T细胞浸润实体瘤部位的重要原因^[4]。

T细胞的转运则涉及到T细胞和内皮细胞之间的相互作用,在其迁移的过程中,诸多因素如:趋化因子-趋化因子受体不匹配、细胞黏附分子下调以及异常脉管系统的存在都有可能导致肿瘤特异性T细胞归巢失败^[5]。

1.2 免疫抑制微环境

TME主要由免疫细胞、基质细胞以及其他非细胞成分组成,TME中的成分与肿瘤细胞相互作用从而促进疾病进展以及耐药性的发生,而且这些相互作用使得TME产生乏氧、低pH、免疫抑制性细胞数量增多、抑制受体上调、肿瘤来源细胞因子分泌等现象,这些变化会导致CAR-T治疗效果不佳^[6]。所以通过去除免疫抑制因素,来提升CAR-T治疗效果有重要意义。

1.3 特异性抗原稀缺及肿瘤免疫逃逸

实体瘤治疗效果不佳的部分原因是缺乏高表达的肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)及肿瘤免疫逃逸机制的发生。TSA仅在肿瘤组织中表达,因此是最理想的靶点,但是其发现、筛选过程较为困难,所以目前大部分的CAR靶点是肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA),但是使用TAA可能会影响CAR-T细胞对肿瘤细胞的识别能力,从而导致CAR-T的治疗效果降低^[7]。再者,肿瘤细胞可以通过免疫逃逸机制来躲避免疫系统的攻击,使得CAR-T不能有效识别肿瘤细胞,从而加速病情的恶化。目前已有研究者为解决靶点发现困难及肿瘤免疫逃逸的问题设计多靶点CAR-T、优化抗原亲和力、设计细胞因子分泌型CAR-T,同时也有创新型肿瘤免疫疗法或者递送方法来提升药效,并且取得了优异的效果。

2 新型联用策略改善实体瘤治疗

2.1 抗体药物与CAR-T疗法联用

抗体药物发挥作用有多种途径,主要包括细胞毒性作用、调节细胞激活能力、抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factors, VEGFs)等^[8],故肿瘤治疗抗体可分为细胞毒性抗体药物、免疫检查点抑制剂、血管生成抑制剂等。由于TME中免疫细胞比例、抗原表达情况以及信号通路的某些变化会导致CAR-T疗法效果不佳,通过联用抗体药物可以改善TME中的不利条件,且CAR-T和抗体可以互相弥补治疗中的不足,使得患者的治疗响应率大幅提升。

2.1.1 细胞毒性抗体药物 目前FDA获批的大部分肿瘤治疗抗体药物需要依赖细胞毒性作用发挥药效。细胞毒性作用主要通过抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated

cytotoxicity, ADCC)、补体依赖性细胞毒性作用 (complement-dependent cytotoxicity, CDC) 和抗体依赖性细胞吞噬作用 (antibody-dependent cell-mediated phagocytosis, ADCP) 清除肿瘤细胞^[9]。目前已有研究者设计 CAR 分子联合细胞毒性抗体药物提升实体瘤的体外杀伤效果,例如 Caratelli 等^[10]设计了表达 Human Fc gamma RIIA (CD32A) 的 CAR-T 细胞, CD32A 分子通常存在于巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 等细胞中,其与 IgG 具有一定亲和力,二者结合后可促进 ADCC 作用发生。在体外研究中,CD32A-CAR-T 细胞可同西昔昔单抗或帕尼单抗结合靶向杀伤 EGFR⁺ 乳腺癌细胞且具有较高的杀伤相关细胞因子分泌水平。

2.1.2 免疫检查点抑制剂 免疫检查点是一类免疫抑制性的分子,其可以调控 T 细胞的活化状态,促进免疫耐受发生。常见的免疫检查点主要有 PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3 等,均是实体瘤中广泛分布的免疫检查点,对 T 细胞的免疫抑制状态有重要作用^[11],CAR-T 在治疗实体瘤患者时经常会因为 TME 中免疫检查点的上调导致 T 细胞的活化状态受到抑制、致使 T 细胞发生耗竭,所以 CAR-T 疗法可以联用免疫检查点抑制剂来解决这一问题。

TME 中肿瘤细胞高表达配体蛋白 PD-L1、PD-L2,同时 T 细胞表面 PD-1 表达上调,使得 PD-1/PD-L1 通路持续激活,T 细胞发生耗竭从而导致药效持续时间短,故 PD-1/PD-L1 抑制剂可以使得 CAR-T 细胞恢复活化状态^[12]。在一项治疗恶性胸膜间皮瘤的临床 I 期实验中,研究者在输注靶向间皮素的 CAR-T 后给予 PD-1 抑制剂帕博利珠单抗,发现联合用药组在 12 周仍可在外周血中检测到 CAR-T 细胞和持续的 IgG 反应^[13]。除了直接抑制免疫检查点外,还可以抑制与免疫检查点上调相关的其他免疫细胞。Yamaguchi 等^[14]发现 TME 中 M2 巨噬细胞会抑制 CAR-T 细胞活性,这与 M2 诱导 CAR-T 高表达 PD-L1 相关,使用 PD-L1 抑制剂阿替利珠单抗或者阿维鲁单抗可导致 M2 死亡,从而提高 CAR-T 细胞的抗肿瘤活性。

2.1.3 血管生成抑制剂 实体瘤的生长和转移需要新生血管,其中有多种生长因子参与肿瘤血管生成,其中最重要的是 VEGFs 家族。VEGFs 通过刺激内皮细胞的增殖、增加血管通透性、在骨髓中募集血管前体细胞来促进肿瘤血管生成,肿瘤

内大量无规则的新生血管导致抗肿瘤药物的低效递送^[15]。且 VEGFs 对 T 细胞有免疫抑制作用,故可以使用 VEGF/VEGFR 抑制性抗体改善 T 细胞功能、阻止血管生成来增强抗肿瘤免疫力。Bocca 等^[16]研究了靶向 GD2 的 CAR-T 联合阿瓦斯汀对神经母细胞瘤小鼠模型的治疗效果。阿瓦斯汀不但可以抑制血管生成,还可以修复和重编程肿瘤脉管系统,使得 TME 血管正常化,从而提升 CAR-T 细胞在肿瘤部位浸润能力及杀伤效果。

2.2 溶瘤病毒与 CAR-T 疗法联用

溶瘤病毒 (oncolytic virus, OV) 是一种可以特异性复制,具有嗜瘤性并且保证正常组织不受到破坏的病毒。OV 可以通过多种作用机制发挥抗肿瘤作用,即:直接裂解肿瘤、释放 TAA、释放细胞内损伤相关分子模式及病原体相关分子模式来激活抗肿瘤免疫应答,或者释放细胞因子及趋化因子来逆转 TME 中的不利条件起到间接抗肿瘤作用^[17]。根据 OV 发挥作用的方式,其优势可以分为 3 个方面:(1) OV 对癌细胞的直接裂解作用导致肿瘤溶解和 TAA 的释放,诱导抗肿瘤适应性反应,从而防止抗原丢失引起的肿瘤逃逸;(2) OV 可以破坏实体瘤屏障以促进 T 细胞浸润;(3) OV 可以破坏 TME 中的免疫抑制成分,增强 CAR-T 细胞的持久性和抗肿瘤活性^[18]。所以利用 OV 的多种优势,可以提高 CAR-T 对 TAA 或 TSA 的靶向能力、增强 T 细胞在实体瘤部位的浸润效果及活化作用从而更好地治疗实体瘤。

OV 联合 CAR-T 疗法的设计思路有多种,如设计细胞因子分泌型 OV、靶向趋化因子受体/配体的 OV、负载免疫检查点抑制剂的 OV、加装免疫共刺激分子的 OV 等。设计 IL-2、IL-15、TNF- α 等细胞因子分泌型 OV 可以大幅提升 CAR-T 细胞活性^[19]。例如 Watanabe 等^[20]构建了负载 TNF- α 和 IL-2 的溶瘤腺病毒 OAd-TNF α -IL2,实验结果显示联合用药组的小鼠肿瘤消退显著。靶向趋化因子受体/配体则可以去除 TME 中的抑制因素来提升免疫细胞浸润能力。Wang 等^[21]利用溶瘤腺病毒负载了趋化因子 CXCL11, OAd-CXCL11 可对 TME 进行重编程,使得免疫抑制性细胞的比例下降。表达免疫检查点抑制剂的 OV 可以解决 TME 中 T 细胞活化功能受到抑制的问题,设计表达双特异性 T 细胞接合剂 (bispecific T-cell engager, BiTE) 的 OV 可以增强 T

细胞的靶向能力,同时通过旁观者效应将肿瘤免疫细胞富集在肿瘤组织周围发挥效应功能^[22]。例如 Porter 等^[23]设计了可分泌 BiTE、PD-L1 抑制剂的腺病毒 CAdTrio, 在 HER-2 及 CD44v6 双阳性头颈部鳞状细胞癌小鼠模型中验证了联用效果。结果表明与 CAR-T 单独用药组相比, 该联用策略的小鼠生存期显著延长、肿瘤杀伤相关细胞因子分泌量增加, T 细胞具有更持久的抗肿瘤效应。加装免疫共刺激分子如 CD40、4-1BB 可增强免疫细胞的局部激活扩增, 例如 Wenthe 等^[24]设计了编码 CD40L 和 4-1BBL 的溶瘤病毒 LOAd703, 其除了可以激活抗原呈递细胞 (antigen-presenting cells, APCs) 和 T 细胞, 还能促进免疫细胞归巢所必需的趋化因子如 CXCL10、CCL17 等的分泌, 从而增强 CAR-T 细胞的迁移能力。

2.3 肿瘤疫苗与 CAR-T 疗法联用

在过去的 50 年中, 治疗性肿瘤疫苗已经进行了大量的临床前及临床研究, 其主要通过激活人体免疫系统、发挥特异性抗肿瘤反应来起到治疗作用, 是一种很有发展前景的抗肿瘤免疫治疗手段。肿瘤疫苗的作用机制是将抗原递呈给树突状细胞 (dendritic cells, DC), 再将活化信号传递给 T 细胞, 经过 T 细胞的活化、增殖和运输后, 高效清除肿瘤^[25]。所以 CAR-T 疗法联合肿瘤疫苗可以增强 T 细胞在实体瘤部位的免疫反应性。肿瘤疫苗发挥作用的关键在于抗原递送的能力, 根据抗原递送载体不同, 肿瘤疫苗可分为细胞疫苗、核酸疫苗和多肽疫苗^[26]。

细胞疫苗的发展以 DC 疫苗为主, DC 可以通过多种机制摄取 TAA 及 TSA、刺激 T 淋巴细胞增殖产生抗肿瘤反应。DC 细胞的抗原递呈能力、共刺激分子或共抑制分子的表达情况, 决定了免疫系统的激活或者抑制^[27]。Wu 等^[28]设计了 Eps8-DCs 疫苗, 将其与 CD19-CAR-T 细胞联合用于治疗复发性白血病患者, 结果表明 Eps8-DCs 可以增强 CAR-T 细胞的增殖能力并且促进免疫功能的发挥。

核酸疫苗的作用方式是将编码蛋白基因的序列直接导入宿主体内, 使其表达抗原蛋白, 从而产生免疫反应。联用核酸疫苗和 CAR-T 疗法可以使淋巴结中的 APCs 表达 CAR-T 靶向的目标抗原, 从而促进 CAR-T 细胞在体内大量扩增, 解决 T 细胞耗竭的问题。例如 Reinhard 等^[29]设计了靶向 CLDN6

的 CAR-T 细胞和 mRNA 疫苗的联合治疗方法, 该研究将含有 CLDN6 序列的 mRNA 核酸分子递送到全身淋巴系统中使 APCs 递呈 CLDN6 来促进 T 细胞的增殖。

多肽疫苗是通过化学合成技术制备的肿瘤特异性肽, 在体内可以激活对多肽疫苗特异性反应的 T 细胞, 从而增强 T 细胞的扩增能力和持久性^[30]。Ma 等^[31]设计了一种多肽疫苗, 在注射到体内后, 该疫苗可以被转运到淋巴结并表达在 APCs 的表面进而激活 CAR-T 细胞。根据小鼠体内药效实验结果, 未输注疫苗的 CAR-T 治疗组给药两周后在血液中基本检测不到 CAR-T 细胞, 而经过疫苗免疫的治疗组血液中有大量 CAR-T 细胞存在, 约为全部 T 细胞的 65%。

2.4 纳米药物与 CAR-T 疗法联用

纳米药物是指尺寸为 1~1 000 nm 的纳米载体或药物, 其可以选择性聚集在发病区域并且发挥药效, 同时防止药物在正常组织发生聚集现象^[32]。纳米药物的治疗方式主要分为 3 种: (1) 靶向肿瘤细胞引起免疫原性细胞死亡 (immunogenic cell death, ICD); (2) 靶向 TME, 消除或者重编程免疫抑制细胞, 或者诱导 TAA 于 APCs 上, 增强免疫细胞的增殖能力和肿瘤浸润效果; (3) 靶向外周免疫系统, 如淋巴结及脾脏^[33]。利用纳米药物的优势, 可以更高效地发挥 CAR-T 细胞抗肿瘤作用。

2.4.1 诱导免疫原性细胞死亡

纳米药物可以促进肿瘤细胞 ICD 的发生, 通过增加免疫效应细胞的浸润、将免疫抑制性 TME 转化为免疫原性 TME 来提高抗肿瘤效果。通常化疗、放疗、光热疗法等治疗手段可诱发 ICD^[34]。其中光热疗法和 CAR-T 联合策略在实体瘤治疗中展现出良好的发展前景。例如 Chen 等^[35]把光热制剂 ICG 包裹在纳米颗粒 PLGA 内注入黑色素瘤小鼠体内, 将肿瘤局部升温至 40 °C 后, 再将 CAR-T 细胞输注到小鼠体内。该策略可以破坏肿瘤细胞外的基质, 扩张血管促进血液流动, 使得 CAR-T 细胞富集在肿瘤周围, 同时高温可使得肿瘤部位引起炎性反应, 促进多种细胞因子分泌。

2.4.2 改善免疫抑制微环境

利用纳米材料的特点, 可将需要调控的基因递送到肿瘤细胞或免疫细胞从而改善 TME 不利环境条件来提升 CAR-T 细胞治疗效果。目前针对 TME 设计纳米材料的策

略聚焦在包装趋化因子受体、免疫检查点抑制剂、促炎细胞因子、抗炎细胞因子抑制剂等。

纳米材料包装趋化因子受体、免疫检查点抑制剂联合 CAR-T 治疗可提升 T 细胞转运、浸润及效应持续性。Miao 等^[36]将靶向 PD-L1 和 CXCL12 的 DNA 分子融合封装在纳米颗粒中, 在胰腺癌小鼠模型中联合治疗组 T 细胞的运输和浸润能力明显提高。将促炎细胞因子如: IL-2、IFN- γ 等递送到 TME 中可以增强肿瘤免疫治疗^[37]; 也可以递送抗炎细胞因子抑制剂, 例如递送转化生长因子(transforming growth factor-beta, TGF- β)分子抑制剂来恢复 T 细胞功能。Jiang 等^[38]开发了纳米材料 β -环糊精-PEI 用于封装 TGF- β 抑制剂和表达 IL-12 的腺病毒载体, 其可以激活 TME 中的 CD4 $^{+}$ 和 CD8 $^{+}$ T 细胞。

2.4.3 解决靶抗原缺乏及肿瘤免疫逃逸问题解决 TSA 缺乏问题有两种方式: 一种是修饰肿瘤细胞, 使其表达更高丰度的抗原, 从而招募 T 细胞发挥作用; 另一种是增加 APCs 和 T 细胞之间的反应性, 提高抗原递呈效果。第一种策略可以促进 CAR-T 细胞的增殖、提高 T 细胞在肿瘤组织中的浸润能力。例如 Sun 等^[39]设计了负载靶抗原的纳米颗粒 F-AgNPs, 其可以特异性修饰肿瘤细胞, 通过细胞间脂质转移到实体瘤深层组织中, 使得 CAR-T 细胞产生免疫应答。另一种策略是靶向 APCs 与 CAR-T 细胞之间形成的免疫突触(immunological synapse, IS)。Zang 等^[40]研究了神经节苷脂纳米颗粒 GM3-NPs, 它可精准定位 IS, 引发 T 细胞免疫应答。

除候选靶抗原缺乏问题外, 肿瘤免疫逃逸的发生也需要解决, 利用纳米材料可以增加不同靶抗原的识别能力。Alhallak 等^[41]开发了一种纳米脂质体 nanoBiTEs, 其一端可以靶向 T 细胞的 CD3 分子, 另一端可以靶向多种肿瘤抗原, 防止肿瘤免疫逃逸。

2.4.4 提高 T 细胞增殖能力 纳米材料用于增强 T 细胞增殖能力主要聚焦在增加抗原刺激程度和新型水凝胶的发展上^[42]。

增强抗原刺激的策略是提高靶抗原在全身淋巴系统及肿瘤部位的表达量, 从而刺激 CAR-T 细胞增殖。例如 Reinhard 等^[29]将编码 CLDN6 抗原的 mRNA 递送到脾脏、淋巴结以及骨髓的 APCs 上, 启

动 Toll 样受体依赖性 I 型干扰素驱动的免疫刺激程序, 使得 T 细胞增殖活化。

水凝胶可封装 CAR-T 细胞、细胞因子、免疫检查点抑制剂等, 可控制地将细胞释出, 并且可以截留细胞因子和免疫检查点抑制剂使得细胞不断受到刺激增殖, 同时防止细胞耗竭发生。Grosskopf 等^[43]开发了聚合物-纳米颗粒(polymer-nanoparticle, PNP)水凝胶, 将 IL-15 和 CAR-T 细胞共同封装于 PNP 中。IL-15 使得 CAR-T 细胞不断增殖和活化, 同时 PNP 对 IL-15 的截留作用可防止细胞因子风暴发生。Hu 等^[44]开发的水凝胶除了封装 T 细胞及细胞因子外还可以封装 PD-L1 抑制剂防止 T 细胞发生耗竭。

2.4.5 靶向外周免疫系统 靶向外周免疫系统旨在增强次级淋巴器官中的抗原递呈能力和促进 CTL 的产生, 提高外周免疫细胞群的抗肿瘤能力^[45]。利用纳米疫苗有效穿透组织屏障, 对抗原高效递送、可控释放和呈递的特点可以提升 CAR-T 疗效^[46]。未甲基化的胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤寡脱氧核苷酸(CpG oligodeoxynucleotides, CpG-ODN)是一种常用佐剂^[47], Chen 等^[48]使用纳米颗粒 Au-DENPs 封装 CpG-ODN 递送至骨髓来源 DCs, 给药后第八天, 在脾脏和肿瘤中检测到大量 CD4 $^{+}$ T 细胞和 CD8 $^{+}$ T 细胞, 证明该策略可触发适应性免疫应答。在淋巴系统中递送抗原 mRNA 也可以使 T 细胞发挥效应, 例如 Chen 等^[49]将编码卵清蛋白的 mRNA 通过脂质纳米颗粒递送到淋巴系统增加了 CD8 $^{+}$ T 细胞的反应性。

3 总结及展望

CAR-T 疗法虽然已在血液肿瘤的治疗中取得了突破性进展, 但在实体瘤的治疗中困难重重, 仍有很多问题需要解决, 如: TME 中的抑制性信号发生、实体瘤抗原靶点匮乏、肿瘤免疫逃逸现象、T 细胞浸润效果差、易发生脱靶现象等^[50]。针对这些问题, 单独使用 CAR-T 治疗无论是在临床前还是临床研究中都很难取得令人满意的治疗效果, 故联合其他肿瘤免疫治疗方法对于实体瘤治疗发展有重大意义。抗体药物凭借不同的作用机制改善 CAR-T 单独给药效果不佳的问题; OV 可以将“冷肿瘤”转化为“热肿瘤”, 促进肿瘤细胞的直接溶解; 肿瘤疫苗通过将抗原递呈给 DCs, 使得 T 细胞

增殖能力大幅提升;纳米载体递送药物/基因可清除免疫抑制细胞、防止免疫抑制信号的产生,或者通过外周免疫系统促进T细胞增殖、增强杀伤肿瘤能力。这些肿瘤免疫疗法优势各不相同,可以从不同方面弥补CAR-T治疗的不足,所以迫切需要研究并阐明不同实体瘤需要攻克的难关及治疗效果差的根本影响因素,从而采用最优的联合方案进行治疗。目前本研究团队已经针对CAR-T在实体瘤中的浸润效果差的问题,利用抗体药物能够发挥ADCC作用的特质,开发了同抗体具有结合能力的CAR-T,在抗体靶向肿瘤的作用下,引导T细胞浸润实体瘤部位,促进抗体及CAR-T细胞药效的发挥。本团队已经取得了优异的体内外结果,可初步判断具有转化为临床应用的潜力。除了联用抗体药物,本团队认为联用纳米材料也具有良好的发展前景,纳米材料卓越的递送能力使得药物更易到达致密的实体瘤部位,凭借这一特点可以递送小分子药物、细胞因子、核酸分子等来提升CAR-T疗效。其他组合策略也值得科研工作者研究,在实现药物临床前有效的基础上,完成用药安全性评价、临床联合治疗效果评估等工作,以造福更多实体瘤患者。

References

- [1] Pan K, Farrukh H, Chitipu VCSR, et al. CAR race to cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR macrophage therapy[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, **41**(1): 119.
- [2] Zhang BL, Qin DY, Mo ZM, et al. Hurdles of CAR-T cell-based cancer immunotherapy directed against solid tumors[J]. *Sci China Life Sci*, 2016, **59**(4): 340-348.
- [3] Martinez M, Moon EK. CAR T cells for solid tumors: new strategies for finding, infiltrating, and surviving in the tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2019, **10**: 128.
- [4] Fang J, Nakamura H, Maeda H. The EPR effect: unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, **63**(3): 136-151.
- [5] Slaney CY, Kershaw MH, Darcy PK. Trafficking of T cells into tumors[J]. *Cancer Res*, 2014, **74**(24): 7168-7174.
- [6] Kankeu Fonkoua LA, Sirpilla O, Sakemura R, et al. CAR T cell therapy and the tumor microenvironment: current challenges and opportunities[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2022, **25**: 69-77.
- [7] Marofi F, Motavalli R, Safonov VA, et al. CAR T cells in solid tumors: challenges and opportunities[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, **12**(1): 81.
- [8] Goydel RS, Rader C. Antibody-based cancer therapy[J]. *Oncogene*, 2021, **40**(21): 3655-3664.
- [9] Yu J, Song Y, Tian W. How to select IgG subclasses in developing anti-tumor therapeutic antibodies[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, **13**(1): 45.
- [10] Caratelli S, Arriga R, Sconocchia T, et al. *In vitro* elimination of epidermal growth factor receptor-overexpressing cancer cells by CD32A-chimeric receptor T cells in combination with cetuximab or panitumumab[J]. *Int J Cancer*, 2020, **146**(1): 236-247.
- [11] Marin-Acevedo JA, Kimbrough EO, Lou YY. Next generation of immune checkpoint inhibitors and beyond[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, **14**(1): 45.
- [12] Grosser R, Cherkassky L, Chintala N, et al. Combination immunotherapy with CAR T cells and checkpoint blockade for the treatment of solid tumors[J]. *Cancer Cell*, 2019, **36**(5): 471-482.
- [13] Adusumilli PS, Zauderer MG, 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[J]. *Cancer Discov*, 2021, **11**(11): 2748-2763.
- [14] Yamaguchi Y, Gibson J, Ou K, et al. PD-L1 blockade restores CAR T cell activity through IFN- γ -regulation of CD163⁺ M2 macrophages[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, **10**(6): e004400.
- [15] Yang J, Yan J, Liu B. Targeting VEGF/VEGFR to modulate anti-tumor immunity[J]. *Front Immunol*, 2018, **9**: 978.
- [16] Bocca P, di Carlo E, Caruana I, et al. Bevacizumab-mediated tumor vasculature remodelling improves tumor infiltration and antitumor efficacy of GD2-CAR T cells in a human neuroblastoma preclinical model[J]. *Oncoimmunology*, 2017, **7**(1): e1378843.
- [17] Guedan S, Alemany R. CAR-T cells and oncolytic viruses: joining forces to overcome the solid tumor challenge[J]. *Front Immunol*, 2018, **9**: 2460.
- [18] Tang XY, Ding YS, Zhou T, et al. Tumor-tagging by oncolytic viruses: a novel strategy for CAR-T therapy against solid tumors [J]. *Cancer Lett*, 2021, **503**: 69-74.
- [19] Ajina A, Maher J. Prospects for combined use of oncolytic viruses and CAR T-cells[J]. *J Immunother Cancer*, 2017, **5**(1): 90.
- [20] 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): e99573.
- [21] Wang GQ, Zhang ZL, Zhong KH, et al. CXCL11-armed oncolytic adenoviruses enhance CAR-T cell therapeutic efficacy and reprogram tumor microenvironment in glioblastoma[J]. *Mol Ther*, 2023, **31**(1): 134-153.
- [22] Heidbuechel JPW, Engeland CE. Oncolytic viruses encoding bispecific T cell engagers: a blueprint for emerging immunovirotherapies[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, **14**(1): 63.
- [23] Porter CE, Rosewell Shaw A, Jung Y, et al. Oncolytic adenovirus armed with BiTE, cytokine, and checkpoint inhibitor

enables CAR T cells to control the growth of heterogeneous tumors[J]. *Mol Ther*, 2020, **28**(5): 1251-1262.

[24] Wenthe J, Naseri S, Labani-Motlagh A, et al. Boosting CAR T-cell responses in lymphoma by simultaneous targeting of CD40/4-1BB using oncolytic viral gene therapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, **70**(10): 2851-2865.

[25] Shemesh CS, Hsu JC, Hosseini I, et al. Personalized cancer vaccines: clinical landscape, challenges, and opportunities[J]. *Mol Ther*, 2021, **29**(2): 555-570.

[26] Liu J, Fu MY, Wang MN, et al. Cancer vaccines as promising immuno-therapeutics: platforms and current progress[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, **15**(1): 28.

[27] Matsuo K, Yoshie O, Kitahata K, et al. Recent progress in dendritic cell-based cancer immunotherapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, **13**(10): 2495.

[28] Wu MR, Zhang LT, Zhang HZ, et al. CD19 chimeric antigen receptor-redirected T cells combined with epidermal growth factor receptor pathway substrate 8 peptide-derived dendritic cell vaccine in leukemia[J]. *Cyotherapy*, 2019, **21**(6): 659-670.

[29] Reinhard K, Rengstl B, Oehm P, et al. An RNA vaccine drives expansion and efficacy of claudin-CAR-T cells against solid tumors[J]. *Science*, 2020, **367**(6476): 446-453.

[30] Nelde A, Rammensee HG, Walz JS. The peptide vaccine of the future[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2021, **20**: 100022.

[31] Ma LY, Dichwalkar T, Chang JYH, et al. Enhanced CAR-T cell activity against solid tumors by vaccine boosting through the chimeric receptor[J]. *Science*, 2019, **365**(6449): 162-168.

[32] Shi Y, Lammers T. Combining nanomedicine and immunotherapy[J]. *Acc Chem Res*, 2019, **52**(6): 1543-1554.

[33] Abdalla AME, Xiao L, Miao Y, et al. Nanotechnology promotes genetic and functional modifications of therapeutic T cells against cancer[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, **7**(10): 1903164.

[34] Duan XP, Chan C, Lin WB. Nanoparticle-mediated immunogenic cell death enables and potentiates cancer immunotherapy[J]. *Angewandte Chemie Int Ed*, 2019, **58**(3): 670-680.

[35] Chen Q, Hu QY, Dukhovlinova E, et al. Photothermal therapy promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR T cells[J]. *Adv Mater*, 2019, **31**(23): e1900192.

[36] Miao L, Li JJ, Liu Q, et al. Transient and local expression of chemokine and immune checkpoint traps to treat pancreatic cancer[J]. *ACS Nano*, 2017, **11**(9): 8690-8706.

[37] Lian HP, Ma S, Zhao DY, et al. Cytokine therapy combined with nanomaterials participates in cancer immunotherapy[J]. *Pharmaceutics*, 2022, **14**(12): 2606.

[38] Jiang JY, Zhang YD, Peng K, et al. Combined delivery of a TGF- β inhibitor and an adenoviral vector expressing interleukin-12 potentiates cancer immunotherapy[J]. *Acta Biomater*, 2017, **61**: 114-123.

[39] Sun ZC, Li RT, Shen Y, et al. *In situ* antigen modification-based target-directed universal chimeric antigen receptor T (TRUE CAR-T) cell therapy in solid tumors[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, **15**(1): 29.

[40] Zang H, Siddiqui M, Gummuluru S, et al. Ganglioside-functionalized nanoparticles for chimeric antigen receptor T-cell activation at the immunological synapse[J]. *ACS Nano*, 2022, **16**(11): 18408-18420.

[41] Alhallak K, Sun J, Wasden K, et al. Nanoparticle T-cell engagers as a modular platform for cancer immunotherapy[J]. *Leukemia*, 2021, **35**(8): 2346-2357.

[42] Zuo YH, Zhao XP, Fan XX. Nanotechnology-based chimeric antigen receptor T-cell therapy in treating solid tumor[J]. *Pharmacol Res*, 2022, **184**: 106454.

[43] Grosskopf AK, Labanieh L, Klysz DD, et al. Delivery of CAR-T cells in a transient injectable stimulatory hydrogel niche improves treatment of solid tumors[J]. *Sci Adv*, 2022, **8**(14): eabn8264.

[44] Hu QY, Li HJ, Archibong E, et al. Inhibition of post-surgery tumour recurrence via a hydrogel releasing CAR-T cells and anti-PDL1-conjugated platelets[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, **5**(9): 1038-1047.

[45] Cho KJ, Cho YE, Kim J. Locoregional lymphatic delivery systems using nanoparticles and hydrogels for anticancer immunotherapy[J]. *Pharmaceutics*, 2022, **14**(12): 2752.

[46] Wen R, Umeano AC, Kou Y, et al. Nanoparticle systems for cancer vaccine[J]. *Nanomedicine (London)*, 2019, **14**(5): 627-648.

[47] Chen WQ, Jiang MX, Yu WJ, et al. CpG-based nanovaccines for cancer immunotherapy[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, **16**: 5281-5299.

[48] Chen H, Fan Y, Hao XX, et al. Adoptive cellular immunotherapy of tumors via effective CpG delivery to dendritic cells using dendrimer-entrapped gold nanoparticles as a gene vector[J]. *J Mater Chem B*, 2020, **8**(23): 5052-5063.

[49] Chen JJ, Ye ZF, Huang CF, et al. Lipid nanoparticle-mediated lymph node-targeting delivery of mRNA cancer vaccine elicits robust CD8 $^{+}$ T cell response[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, **119**(34): e2207841119.

[50] Ma S, Li XC, Wang XY, et al. Current progress in CAR-T cell therapy for solid tumors[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, **15**(12): 2548-2560.