

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2020.07.015

· 综述 ·

CAR-T 细胞治疗消化系统肿瘤的研究进展

Research progress on the CAR-T therapy in treating gastrointestinal tumors

王一然 综述; 陈铃, 湛先保 审阅(海军军医大学附属长海医院 肿瘤科, 上海 200433)

[摘要] 嵌合抗原受体基因修饰T细胞(chimeric antigen receptor gene modified T lymphocyte, CAR-T cell)治疗血液肿瘤显示了良好的效果,也为治疗食管癌、胃癌、肝细胞癌、胆管癌、胰腺癌和结直肠癌等消化系统肿瘤提供了新选择。消化系统不同部位肿瘤的细胞特征和肿瘤微环境存在差异,故靶向抗原的选择和CAR-T细胞的设计也相应地有所不同。CAR-T细胞治疗与其他免疫治疗联合使用也取得了一定的进展,但主要体现在细胞实验和小鼠体内实验。目前存在的脱靶效应、细胞因子释放综合征等副作用严重阻碍了CAR-T细胞的研究进展,限制了其在实体瘤中的应用。本文就近年来CAR-T细胞治疗消化系统肿瘤的研究进展作一阐述。

[关键词] 嵌合抗原受体基因修饰T细胞;食管癌;胃癌;肝细胞癌;胆管癌;胰腺癌;结直肠癌

[中图分类号] R735;R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)07-0813-07

消化系统肿瘤的发病率在中国呈上升趋势。中国2015年的消化系统肿瘤(包括食管癌、胃癌、肝胆肿瘤、胰腺癌和结直肠癌)新发病例214万余例,占有新发肿瘤患者数量的49.9%,消化系统肿瘤导致的病死人数160万余例,占有肿瘤导致死亡人数的57.1%^[1];而美国相应的比例分别是17.6%和26.3%^[2]。由此可见,中国面临的消化系统肿瘤防治形势十分严峻,迫切需要探索新的治疗方式。嵌合抗原受体基因修饰T细胞(chimeric antigen receptor gene modified T lymphocyte, CAR-T cell)治疗血液肿瘤显示了良好的效果,并且已有CAR-T细胞被美国FDA批准用于治疗血液系统肿瘤。近来不断有CAR-T细胞治疗消化系统肿瘤的基础与临床研究发布,也有部分研究取得了令人鼓舞的进展。但是CAR-T细胞在包括消化系统肿瘤在内的实体瘤治疗中面临诸多挑战,肿瘤的周围基质和免疫细胞构建的物理障碍及免疫屏障使得CAR-T细胞难以完全浸润肿瘤组织^[3];此外较多的毒副反应,如脱靶效应、细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)等限制了临床应用;消化系统肿瘤的靶抗原存在异质性,靶向抗原的CAR-T细胞特异性不强^[4]。本文对CAR-T细胞治疗消化系统肿瘤的研究进展作一综述。

1 治疗的可行性

1.1 食管癌

食管癌细胞表达的促红细胞生成素肝细胞受体A2(erythropoietin-producing hepatocellular receptor A2, EphA2)是Eph家族表面抗原中的一员,其可以通过促进上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和血管生成而发挥促癌作用。研究^[5]发现,食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell cancer,

ESCC)中EphA2过表达比例可以达到50%,并且高表达和预后差关联。SHI等^[6]构建的第二代EphA2-CAR-T细胞,相对于对照组T细胞,在体外实验中可以杀死更多的ESCC细胞($P<0.01$),并且呈剂量依赖性;在与ESCC细胞共培养时,EphA2-CAR-T细胞分泌的TNF- α 和IFN- γ 等的细胞因子水平也高于对照组T细胞($P<0.05$);但是尚未进行体内实验,其安全性尚未得到证实。人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2,HER2)在14.9%的ESCC中高表达,并且HER2高表达患者比低表达患者的总生存期长(中位生存期70.1 vs 24.6个月, $P<0.01$)^[7]。ZHANG等^[8]检测13例ESCC患者的癌组织中miR-143,发现miR-143表达下调并与中央记忆型T细胞的表达受到抑制正相关。若上调miR-143表达,则可以促进CD8⁺T细胞的分化、减少细胞凋亡、增加炎症因子的分泌,并且可以提高HRE2。CAR-T细胞对于ESCC细胞的杀伤作用,而这种调控是通过葡萄糖转运1基因(glucose transporter 1, Glut-1)实现的。此外,该研究发现miR-143的上游抑制分子吡哆胺2,3-双加氧酶1(indoleamine2,3-dioxygenase1, IDO1)如果被抑制,可以使miR-143表达上调,进而提升T细胞的抗肿瘤效应,这一结果为增强CAR-T细胞治疗肿瘤的疗效提供了新思路。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81370571, No. 81672892)。Project supported by the National Science Foundation of China (No.81370571, No.81672892)

[作者简介] 王一然(1991-),男,博士,主治医师,主要从事消化系统肿瘤免疫治疗研究,E-mail:wyrwangyiran@163.com.

[通信作者] 湛先保(ZHAN Xianbao, corresponding author),博士,主任医师、教授,博士生导师,主要从事消化系统肿瘤综合诊疗与转化医学研究,E-mail:zhanxianbao@smmu.edu.cn

1.2 胃癌

在国内人群中, CLDN18.2 在 16% 胃癌组织和 34% 的胃转移癌组织中高表达, 而其在正常组织中仅限于胃上皮中表达^[9]。DOTTERMUSCH 等^[10]在高加索人群中的一项研究发现, CLDN18.2 在胃癌中表达率为 42.2%, 这种差异使其能够成为治疗胃癌的潜在靶点。LI 等^[11]建立了人源化 CLDN18.2.CAR-T 细胞。在胃癌细胞系异种移植小鼠模型中, CLDN18.2.CAR-T 细胞能浸润到肿瘤组织中, 杀伤高表达 CLDN18.2 的癌细胞, 同时尚未发现其对小鼠正常器官包括胃组织的破坏作用。所以 CLDN18.2.CAR-T 细胞可能成为治疗 CLDN18.2 阳性患者胃癌的方法之一。长海医院肿瘤科报道了 CLDN18.2.CAR-T 细胞在 7 例胃癌患者中的临床数据, 单用 CAR-T 细胞并未观察到肿瘤缩小; 其与化疗联合应用的抗肿瘤效应有待进一步验证。间皮素(mesothelin, MSLN) 在间皮瘤、肺癌、乳腺癌、胰腺癌以及胃癌组织中高表达^[12]。LV 等^[13]构建了 MSLN.CAR-T 细胞, 在与胃癌细胞共培养时, 该细胞显著活化, 增强了细胞毒性和细胞因子分泌能力。在小鼠体内实验中, MSLN.CAR-T 细胞使得肿瘤体积缩小; 并且与对照组 T 细胞相比, 可以显著延长胃癌腹腔和肺转移小鼠的生存期。在给药方式上, 瘤周注射比静脉注射更能提高 CAR-T 细胞对肿瘤的浸润和抑制程度。值得注意的是, 该研究采用的是皮下胃癌肿瘤模型, 皮下注射 CAR-T 细胞即可接触肿瘤组织, 所以采用瘤周注射的方式具有可行性。但是在实际胃癌中, 皮下注射不等于瘤周注射, 故操作有局限性。但是这也提示, 不同的给药方式对疗效有一定的影响。

1.3 肝细胞癌和胆管癌

酪氨酸蛋白激酶 Met(c-MET) 是原癌基因 MET 的产物, 主要在上皮和内皮细胞、神经元、肝细胞和造血细胞中表达, 在肿瘤进展中发挥重要作用, 其在多种实体瘤细胞(肝细胞癌、乳腺癌、肺癌和结直肠癌)中高表达^[14]。LIU 等^[15]构建靶向 c-MET 抗原的 c-MET.CAR-NK 细胞, 对于高表达 c-MET 的 HepG2 细胞, c-MET.CAR-NK 细胞有特异性的杀伤作用, 如果 c-MET 低表达, 则没有这种杀伤作用。该结果表明, 对于高表达 c-MET 的肝细胞癌, c-MET.CAR-NK 细胞可能是特异和有效的治疗手段。此外, 该研究也发现, 与 T 细胞相比, NK 细胞分泌的 γ 干扰素(interferon γ , IFN- γ) 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 更多, 分泌的 IL-6 较少; 而 CRS 主要由 IL-6 介导。在副作用上, CAR-NK 细胞导致 CRS 的可能性更低, 在临床应用上更安全。磷脂酰肌醇蛋白聚

糖(glypican-3, GPC3) 是一种膜性硫酸乙酰肝素糖蛋白, 作为生物效应分子, 对组织和器官的发生与发展起调控作用。其在 70% 的肝细胞癌中高表达, 是早期诊断指标之一^[16]。有研究^[17]表明, GPC3.CAR-T 细胞可以选择性地杀伤 GPC3⁺ 肝细胞癌细胞, 并且这种杀伤效果与 GPC3 的表达丰度呈正相关。第三代 GPC3.CAR-T 细胞可以抑制表达 GPC3 的人肝细胞癌裸鼠移植瘤的生长, 显著延长肝细胞癌原位移植模型裸鼠的生存期。

HER2 在胆囊癌中的表达比例为 26.5%^[18]。FENG 等^[19]以 HER2 为靶点构建 CAR-T 细胞, 并在晚期胆管癌中进行了 I 期临床研究, 主要目的是评价 HER2.CAR-T 细胞免疫疗法在晚期胆管癌中的安全性、可行性及有效性。共招募 11 例患者, 输注 1~2 周期的 HER2.CAR-T 细胞(CAR-T 细胞中位数为 $2.1 \times 10^6/\text{kg}$), 其中 1 例患者获得 4.5 个月的部分缓解、5 例患者病情稳定、6 例患者进展, 中位无进展生存期(progression free survival, PFS) 为 4.8 个月; 在安全性上, 1 例患者输注后第 11 天出现上消化道出血、2 例出现发热以及 C 反应蛋白和 IL-6 升高, 可见 HER2.CAR-T 细胞治疗胆管癌具有可行性。

1.4 胰腺癌

据统计^[20], 66% 的胰腺癌患者 B7-H3 表达阳性, 并且其高表达和疾病 PFS 短相关。DU 等^[21]的研究表明, 靶向 B7-H3 的 CAR-T 细胞可在体外抑制胰腺导管腺癌细胞的生长, 并且也可抑制在患者源性异种移植(patient-derived xenograft, PDX) 小鼠模型中的胰腺肿瘤。同时发现靶向 B7-H3 的 CAR-T 细胞的共刺激因子 4-1BB 可以下调程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1) 表达, 所以相对于 PD-1 低表达的胰腺肿瘤细胞, 程序性死亡受体-配体 1(programmed death-ligand 1, PD-L1) 高表达的肿瘤对于靶向 B7-H3 的 CAR-T 细胞更为敏感。超过 90% 的胰腺导管腺癌患者高表达 MSLN^[22]。BEATTY 等^[23]在 6 例胰腺导管腺癌化疗后复发转移的患者中进行了 MSLN.CAR-T 细胞的 I 期临床试验, 患者每周输注 3 次, 共 3 周输注 9 次, 未观察到 CRS 和神经症状等副作用, 并且未观察到剂量限制性毒性。2 例患者病情稳定, PFS 是 3.8 和 5.4 个月; 1 例患者肝转移灶代谢活性下降。该研究证实了 MSLN.CAR-T 细胞的治疗胰腺癌的作用。长海医院肿瘤科^[24]报道了 5 例胰腺癌使用 CLDN18.2.CAR-T 细胞和白蛋白紫杉醇的临床数据(NCT03159819), 单用 CAR-T 细胞治疗并未见到肿瘤缩小, 两者联合应用可见抗肿瘤效应, 同时在临床应用中观察到了 CRS 和中枢神经毒性等不良事件, 该疗法的安全性仍有待进一步提高。

1.5 结直肠癌

上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)是一种穿膜糖蛋白,有研究^[25]显示,EpCAM在58.7%的结直肠癌中高表达,可作为循环肿瘤细胞和肿瘤干细胞的检测标志物。ZHANG等^[26]构建了靶向肠癌细胞EpCAM的第三代CAR-T细胞(EpCAM.CAR-T细胞),该细胞依赖EpCAM信号通路发挥细胞毒作用。体外实验中可以分泌包括IFN- γ 和TNF- α 在内的多种细胞因子;在小鼠移植瘤模型中,EpCAM.CAR-T细胞可以显著抑制移植瘤的生长,肠癌的细胞治疗和靶向药物的联合应用不断获得进展,未发现小鼠全身毒性反应。ZHANG等^[27]探索了第二代EpCAM.CAR-NK92细胞联合瑞戈非尼治疗结直肠癌的效果,在小鼠结直肠癌的移植模型中,EpCAM.CAR-NK92细胞能够识别EpCAM表达阳性的结直肠癌细胞,并释放IFN- γ 和穿孔素等多种细胞因子;EpCAM.CAR-NK92细胞和瑞戈非尼联合应用对于肿瘤的抑制效果优于两者单独使用。这为提高细胞治疗的疗效提供了新思路。

2 治疗的安全性

2.1 CRS

CRS是CAR-T细胞治疗最常见的并发症,主要表现为高热、肌痛、低血压、呼吸衰竭、凝血功能障碍和肝肾功能衰竭^[28],70%~90%接受CAR-T细胞治疗的患者均出现了不同程度的CRS^[29]。尽管CRS导致的部分毒性作用较为轻微,但多达50%的患者会出现危及生命的并发症,如血管渗漏综合征、循环衰竭和多器官衰竭^[30]。CRS的发生与CAR-T细胞结构中共享刺激分子的特性、CAR-T细胞输注量、肿瘤负荷和患者本身的情况密切相关。

以往认为CRS主要由CAR-T细胞溶解肿瘤引起,但是越来越多的研究表明,巨噬细胞/单核细胞和内皮细胞在CRS的发生过程中也起到了重要作用。CRS患者血清中,单核细胞/巨噬细胞相关细胞因子(IL-1RA、IL-10、IL-6、IP10、MIG、IFN- α 、MIP1a、MIP1b和sIL6R)都有不同程度的升高^[31]。严重的CRS患者血清中MCP1和MIP1b水平升高,作为巨噬细胞的趋化因子,MCP1和MIP1b能促进巨噬细胞积聚,并进一步激活信号转导通路。IL-6是促进CRS的重要细胞因子,最近研究^[32]表明,单核细胞和内皮细胞都是IL-6的重要来源。

托珠单抗(tocilizumab)是单克隆抗IL-6受体抗体,是一个获得FDA批准用于CAR-T细胞引起的CRS治疗的药物,其可以在不影响CAR-T细胞抗肿瘤作用的情况下改善CRS。Siltuximab是另一种单

克隆抗体,通过与IL-6结合阻止其激活免疫效应细胞来阻断IL-6信号。虽然Siltuximab还没有得到FDA的批准,但它对IL-6的亲合力比托珠单抗高,可用于治疗对托珠单抗和皮质类固醇激素无反应的患者^[30]。与托珠单抗相比,Siltuximab的另一个理论优势是,通过直接结合IL-6,它可能会降低中枢神经系统中IL-6的水平,而托珠单抗阻断IL-6R可能导致全身和中枢神经系统IL-6升高,这可能会加重神经毒性^[32]。目前尚未发现有一种抗体或药物适用于所有CRS患者。随着CAR-T细胞疗法在更多的血液恶性肿瘤和实体瘤的应用,每一个患者都需要基于年龄、并发症、CAR-T细胞输注时肿瘤负荷和预测的生物标志物进行个性化治疗方案设计。

2.2 CAR-T细胞诱导的神经毒性

CAR-T细胞诱导的神经毒性也被称为CAR-T相关脑病综合征(CAR-T-related encephalopathy syndrome, CRES)或免疫效应细胞相关神经毒性综合征(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS),是CAR-T细胞治疗的第二大并发症^[33]。不同患者的CRES的发生和进展程度有所差异,取决于CAR-T细胞结构和肿瘤类型等因素。CRES主要表现为脑病,其他常见的症状包括癫痫发作和局灶性功能缺损,包括失语症、视力改变、震颤和面部下垂。CRES的发生机制仍不清楚,可能由多个病理生理过程共同引起^[34]。

关于CRES发生机制的一个假说是:CRES是由活化的CAR-T细胞和巨噬细胞释放的炎症介质引起的。这些炎症介质导致中枢神经系统中内皮细胞的棒杆状小体(又称Weibel-Palade小体)释放血管生成素2(angiotensin-2)和von Willebrand因子^[35],导致血管生成素1被替换,从而抑制TIE受体酪氨酸激酶信号,使内皮细胞失去了血脑屏障的完整性,渗透性增强;而高分子量的von Willebrand因子还导致凝血障碍。随着细胞因子和活化的炎症细胞继续渗透到血脑屏障中,这种正反馈循环使得病情进一步恶化。这一病理生理学变化与血小板减少性紫癜(thrombocytopenic thrombotic purpura, TTP)相似,因此血浆置换等干预措施可能对于CRES有效。

另一种关于CRES机制的假说涉及NK细胞^[36]。NK细胞分泌IL-2和IL-15,在CRES患者中均被发现升高。NK细胞的活化将激活中枢神经系统的小胶质细胞,并造成中枢神经系统内的炎症环境。对这种作用机制的进一步研究正在小鼠模型中进行。严重的CRES患者脑脊液中的兴奋性神经递质有不同程度的升高,这些兴奋性递质分子可能作为治疗靶点,用于治疗CRES。

CRES 的治疗方式主要为对症支持治疗。除了 CAR-T 细胞输注时预防性使用左乙拉西坦外, 其他干预措施的数据有限^[37]。虽然托珠单抗是 FDA 批准的治疗 CRS 药物, 但还没有证据显示它对 CRES 有治疗作用。由于皮质类固醇激素对 CAR-T 细胞抗白血病疗效有潜在的不利影响, 在儿童患者 CRES 中并不推荐常规使用。部分研究中心将皮质类固醇激素用于严重的成人 CRES 患者, 出现脑水肿的患者应始终考虑使用皮质类固醇激素。

有研究者在 CAR-T 细胞中敲除 GM-CSF 基因, 可以使 GM-CSF 释放减少, 可能会使神经相关毒性减少, 但是否会影响 CAR-T 细胞的抗肿瘤效果仍需进一步验证^[38]。

2.3 心血管不良事件

CAR-T 细胞治疗产生的心血管不良事件主要包括心动过速、肌钙蛋白升高、低血压、左室射血分数降低、心源性休克、心脏骤停和心力衰竭。大部分患者的情况具有自限性, 但是也有致死性心血管事件的报道。虽然心功能障碍的发作可为急性, 部分情况下较为严重, 但通常是可逆的。CAR-T 细胞治疗后心血管不良事件的病理生理机制尚不清楚, 但其与脓毒症和应激相关的心肌病类似, 可能与 IL-6 有关, IL-6 在感染性和炎症状态下被认为是心肌抑制的促进因素^[39]。

在对接受 CD-19 CAR-T 细胞治疗的儿童患者的分析中, 10% 的患者在 CAR-T 细胞输注后出现左心室收缩功能障碍。这种功能障碍大多持续时间较短, 一般不具有持续性^[40]。在接受 CAR-T 细胞治疗的儿童患者中, 无论是否具有左心室收缩功能障碍, 均有 24% 的患者发生低血压, 需要支持治疗^[41]。在一项 CD-19 CAR-T 细胞治疗淋巴瘤的试验中, 13.6% 的患者需要血管加压素支持治疗低血压^[42]。一项单中心回顾性研究^[43]表明, 在接受 CAR-T 细胞治疗的患者中, 有超过一半的患者血清肌钙蛋白升高。肌钙蛋白升高常见于存在心脏结构异常的患者, 并与随后的心血管事件相关。

目前 CAR-T 细胞治疗产生的心血管不良事件没有确切有效的治疗方法, 主要采取对症治疗。对于 CAR-T 细胞治疗后心血管不良事件的管理需要高水平的临床监测, 心脏监测包括遥测 (telemetry)、12 导联心电图、超声心动图和心脏生物标志物 (心肌肌钙蛋白和脑利钠肽) 检测。

3 面临的挑战与对策

3.1 研发多靶点的 CAR-T 细胞

单靶点 CAR-T 细胞仍然面临着多次治疗后肿瘤

耐药性的挑战, 而表达多靶点的 CAR-T 细胞可能一定程度上延缓肿瘤细胞的抗原逃逸。哈佛大学 CHOI 等^[44]提出 CAR-T 细胞与 BiTEs 联合免疫疗法治疗脑胶质细胞瘤, 可增强特异性抗肿瘤效应。目前双特异性 CAR 存在如下 3 种设计方式: (1) 靶向两种肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA) 的两个 scFv 分别与共刺激信号 (CD28/CD137) 和激活信号 (CD3 ζ) 连接, 其中一个 scFv 与 CD28/CD137 相连, 另一个 scFv 与 CD3 ζ 相连。这样只表达一种靶抗原的正常细胞与 CAR-T 细胞结合后, 仅能提供激活信号或者共刺激信号, 无法充分活化 T 细胞; 只有当 CAR-T 细胞遇到同时表达两种抗原的肿瘤细胞, CD3 ζ 激活信号和共刺激信号方可共同作用引起 CAR-T 细胞活化^[45]。(2) 两个 scFv 串联后与胞内区信号连接^[46]。(3) 一种 scFv 同时识别 2 种 TAA^[47]。

3.2 研发通用型 CAR-T 细胞

相对于个体化的 CAR-T 细胞, 通用型的 CAR-T 细胞在临床应用中更具有可操作性。针对特定肿瘤的通用型 CAR-T 细胞, 在临床应用中患者的等待时间较短, 制作成本降低, 更有利于普及。有研究者^[48]通过对 CAR-T 细胞进行人类淋巴细胞抗原 (human lymphocyte antigen, HLA) 的改造, 可以避免宿主抗移植反应, 为通用型 CAR-T 细胞的设计提供了可能。

3.3 研发改善肿瘤微环境的药物和措施

肿瘤免疫抑制性微环境 (tumor immunosuppressive microenvironment, TIME) 也是限制 CAR-T 细胞治疗消化系统肿瘤疗效的原因之一。肿瘤细胞募集骨髓细胞和成纤维细胞等免疫抑制细胞, 形成肿瘤周围的免疫屏障, 阻止 T 细胞浸润到肿瘤中^[49]。此外, 肿瘤微环境中的氧化应激、营养物质供给不足、缺氧和酸性环境会抑制 CAR-T 细胞的作用效率^[50]。改变肿瘤微环境也是提升治疗效果的重要途径^[51]。目前针对改善免疫微环境的研究主要包括以下几个方面: (1) 针对免疫检查点分子: PD-1、PD-L1 等是发挥免疫抑制的分子之一, PD-1/PD-L1 抑制剂与 CAR-T 细胞联合应用可改善治疗效果^[52]。相比于传统 CAR-T 细胞, 可分泌 PD-1 阻滞剂类似物的 CAR-T 细胞可显著延长卵巢癌模型小鼠生存期, 提高 T 细胞在体内存活时间^[53]。(2) 抑制肿瘤内新陈代谢: 低氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor, HIF) 在癌细胞中存在过表达, 低氧环境可诱导血管异常化生成导致 T 细胞转运及归巢受限, 将 CAR-T 细胞氧敏感区域与 HIF 融合形成新型 CAR-T 细胞 (HIF-CAR-T), 在体外实验中, 其可通过氧水平的变化调节自身功能^[54]。(3) 降低屏障作用: FU 等^[55]研究证明在小鼠黑色素瘤模型中, CAR-T 细胞靶向锯鳞血抑肽 (T-e CAR) 可通过破

坏肿瘤血管生成有效抑制肿瘤生长。(4)针对细胞因子的策略:在卵巢癌小鼠模型中,共表达IL-12及黏蛋白16(MUC-16)的CAR-T(4H11-28z-IL-12-CAR-T)细胞可促进IFN- γ 分泌、延长T细胞在体内存活时间及荷瘤小鼠生存期^[56]。

3.4 适度调控CAR-T细胞的凋亡

CAR-T细胞在体内半衰期的长短与疗效和安全相关。调控CAR-T细胞凋亡是当前的研究热点^[57]。如将促凋亡蛋白caspase-9与FKBP12(iCasp9)的结构域融合,在引入二聚体小分子例如利米德凝胶时,促使iCasp9的FKBP12结构域二聚化,导致T细胞凋亡^[58];在CAR-T细胞中引入表达单纯疱疹病毒胸苷激酶基因,患者服用更昔洛韦后,CAR-T细胞凋亡^[59];在CAR-T细胞中插入表皮生长因子受体(EGFR)或CD20基因,西妥昔单抗或利妥昔单抗可分别杀伤表达EGFR或者CD20分子的CAR-T细胞^[60]。所以治疗消化系统肿瘤的CAR-T细胞的凋亡调控也是值得关注的研究内容^[61]。但是此法会导致体内不能持续存在扩增的CAR-T细胞,肿瘤如果复发,体内将缺乏抗肿瘤作用的CAR-T细胞^[59]。

3.5 克服CAR-T细胞面临的其他问题

近两年CAR-T细胞治疗消化系统肿瘤的临床研究逐渐增多,但是多局限在I或者II期临床研究,样本量相对较少,缺乏大样本的数据支撑。此外,CAR-T细胞产品的法律监管;上下游配套产业链的配合;CAR-T细胞治疗的临床路径和管理经验;采血和回输等环节在医院操作、细胞制备和企业操作等诸多环节,还需要不断磨合,实现密切衔接^[62]。同时最现实的问题是,CAR-T细胞昂贵的经济负担阻碍了进一步推广。因此这为当前CAR-T细胞治疗消化系统肿瘤带来不确定因素。

4 结 语

消化系统肿瘤在临床上十分常见,其发病率和病死率均较高,探索有效的CAR-T细胞治疗具有重要的临床意义。针对不同抗原的CAR-T细胞在基础实验中显示了对消化系统肿瘤细胞有效的杀伤作用,但是大样本量的临床试验数据尚不足,且研究中遇到了诸多挑战,其有效性和安全性仍是值得关注的研究领域。在优化抗原选择方式、提高CAR-T细胞治疗的靶向性、减少CRS等副作用方面仍然需要进一步探索。有理由相信,有效和安全的CAR-T细胞治疗会不断发展,消化系统肿瘤的治疗也会从中获益。

[参 考 文 献]

[1] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in

China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(1): 7-34. DOI:10.3322/caac.21551.

[3] THORSSON V, GIBBS D L, BROWN S D, et al. The immune landscape of cancer[J/OL]. *Immunity*, 2018, 48(4): 812-830, e8[2020-01-09]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074761318301213>. DOI:10.1016/j.immuni.2018.03.023.

[4] GORCHAKOV A A, KULEMZIN S V, KOCHNEVA G V, et al. Challenges and prospects of chimeric antigen receptor T-cell therapy for metastatic prostate cancer[J/OL]. *Eur Urol*, 2019, 77 (3): 299-308[2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31471138>. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.08.014.

[5] MIYAZAKI T, KATO H, FUKUCHI M, et al. EphA2 overexpression correlates with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(5): 657-663. DOI: 10.1002/ijc.10860.

[6] SHI H, YU F, MAO Y T, et al. EphA2 chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *J Thorac Dis*, 2018, 10(5): 2779-2788[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6006048/>. DOI:10.21037/jtd.2018.04.91.

[7] PLUM P S, GEBAUER F, KRÄMER M, et al. HER2/neu (ERBB2) expression and gene amplification correlates with better survival in esophageal adenocarcinoma[J/OL]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 38 [2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6325716/>. DOI:10.1186/s12885-018-5242-4.

[8] ZHANG T F, ZHANG Z, LI F, et al. MiR-143 regulates memory T cell differentiation by reprogramming T cell metabolism[J]. *J Immunol*, 2018, 201(7): 2165-2175. DOI:10.4049/jimmunol.1800230.

[9] ROHDE C, YAMAGUCHI R, MUKHINA S, et al. Comparison of Claudin 18.2 expression in primary tumors and lymph node metastases in Japanese patients with gastric adenocarcinoma[J/OL]. *Jpn J Clin Oncol*, 2019, 49(9): 870-876[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6792344/>. DOI:10.1093/jjco/hyz068.

[10] DOTTERMUSCH M, KRÜGER S, BEHRENS H M, et al. Expression of the potential therapeutic target claudin-18.2 is frequently decreased in gastric cancer: results from a large Caucasian cohort study[J/OL]. *Virchows Arch*, 2019, 475(5): 563-571[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6861347/>. DOI: 10.1007/s00428-019-02624-7.

[11] JIANG H, SHI Z M, WANG P, et al. Claudin18.2-specific chimeric antigen receptor engineered T cells for the treatment of gastric cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111(4): 409-418. DOI:10.1093/jnci/djy134.

[12] SHIN S J, PARK S, KIM M H, et al. Mesothelin expression is a predictive factor for peritoneal recurrence in curatively resected stage III gastric cancer[J/OL]. *Oncologist*, 2019, 24(11): e1108-e1114 [2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31015316/>. DOI: 10.1634/theoncologist.2018-0896.

[13] LV J, ZHAO R C, WU D, et al. Mesothelin is a target of chimeric antigen receptor T cells for treating gastric cancer[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 18[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6380000/>. DOI:10.1186/s13045-019-0704-y.

[14] ALMALÉ L, GARCÍA-ÁLVARO M, MARTÍNEZ-PALACIÁN A,

- et al. C-met signaling is essential for mouse adult liver progenitor cells expansion after transforming growth factor- β -induced epithelial-mesenchymal transition and regulates cell phenotypic switch[J]. *Stem Cells*, 2019, 37(8): 1108-1118. DOI:10.1002/stem.3038.
- [15] LIU B, LIU Z Z, ZHOU M L, et al. Development of c-MET-specific chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells with cytotoxic effects on human liver cancer HepG2 cells[J]. *Mol Med Report*, 2019, 20(3): 2823-2831. DOI:10.3892/mmr.2019.10529.
- [16] SCHEPER W, KELDERMAN S, FANCHI L F, et al. Low and variable tumor reactivity of the intratumoral TCR repertoire in human cancers[J]. *Nat Med*, 2019, 25(1): 89-94. DOI:10.1038/s41591-018-0266-5.
- [17] GAO H P, LI K S, TU H, et al. Development of T cells redirected to glypican-3 for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6418-6428. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-1170.
- [18] GALDY S, LAMARCA A, MCNAMARA M G, et al. HER2/HER3 pathway in biliary tract malignancies: systematic review and meta-analysis: a potential therapeutic target? [J/OL]. *Cancer Metastasis Rev*, 2017, 36(1): 141-157[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5385197/>. DOI:10.1007/s10555-016-9645-x.
- [19] FENG K C, LIU Y, GUO Y L, et al. Phase I study of chimeric antigen receptor modified T cells in treating HER2-positive advanced biliary tract cancers and pancreatic cancers[J/OL]. *Protein Cell*, 2018, 9(10): 838-847[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6160389/>. DOI:10.1007/s13238-017-0440-4.
- [20] INAMURA K, TAKAZAWA Y, INOUE Y, et al. Tumor B7-H3 (CD276) expression and survival in pancreatic cancer[J/OL]. *J Clin Med*, 2018, 7(7): E172[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6069252/>. DOI:10.3390/jcm7070172.
- [21] DU H W, HIRABAYASHI K, AHN S, et al. Antitumor responses in the absence of toxicity in solid tumors by targeting B7-H3 via chimeric antigen receptor T cells[J/OL]. *Cancer Cell*, 2019, 35(2): 221-237. e8[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6645919/>. DOI:10.1016/j.ccell.2019.01.002.
- [22] AVULA L R, RUDLOFF M, EL-BEHAEDI S, et al. Mesothelin enhances tumor vascularity in newly forming pancreatic peritoneal metastases[J]. *Mol Cancer Res*, 2020, 18(2): 229-239. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-19-0688.
- [23] BEATTY G L, O'HARA M H, LACEY S F, et al. Activity of mesothelin-specific chimeric antigen receptor T cells against pancreatic carcinoma metastases in a phase I trial[J/OL]. *Gastroenterology*, 2018, 155(1): 29-32[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6035088/>. DOI:10.1053/j.gastro.2018.03.029.
- [24] ZHAN X B, WANG B, LI Z H, et al. Phase I trial of Claudin 18.2-specific chimeric antigen receptor T cells for advanced gastric and pancreatic adenocarcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15suppl): 2509. DOI:10.1200/jco.2019.37.15_suppl.2509.
- [25] POP M G, BARTOŞ D M, FIŢ A M, et al. Detection of epithelial specific cell adhesion molecules in colon cancer and the correlation with clinical and pathological characteristics EpCAM expression in colon cancer[J/OL]. *Ann Ital Chir*, 2019, 90: 318-323 [2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31657353/>.
- [26] ZHANG B L, LI D, GONG Y L, et al. Preclinical evaluation of chimeric antigen receptor-modified T cells specific to epithelial cell adhesion molecule for treating colorectal cancer[J]. *Hum Gene Ther*, 2019, 30(4): 402-412. DOI:10.1089/hum.2018.229.
- [27] ZHANG Q, ZHANG H, DING J, et al. Combination therapy with EpCAM-CAR-NK-92 cells and regorafenib against human colorectal cancer models[J/OL]. *J Immunol Res*, 2018, 2018: 4263520 [2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31676721/>. DOI:10.1155/2018/4263520.
- [28] LEE Y G, CHU H Y, LU Y J, et al. Regulation of CAR T cell-mediated cytokine release syndrome-like toxicity using low molecular weight adapters[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2681[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6581910/>. DOI:10.1038/s41467-019-10565-7.
- [29] NEELAPU S S, TUMMALA S, KEBRIAIEI P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities[J/OL]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 47-62[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6733403/>. DOI:10.1038/nrclinonc.2017.148.
- [30] RIEGLER L L, JONES G P, LEE D W. Current approaches in the grading and management of cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy[J/OL]. *Ther Clin Risk Manag*, 2019, 15: 323-335[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6400118/>. DOI:10.2147/TCRM.S150524.
- [31] SANTOMASSO B D, PARK J H, SALLOUM D, et al. Clinical and biological correlates of neurotoxicity associated with CAR T-cell therapy in patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia[J/OL]. *Cancer Discov*, 2018, 8(8): 958-971[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6385599/>. DOI:10.1158/2159-8290.CD-17-1319.
- [32] NORELLI M, CAMISA B, BARBIERA G, et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells[J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 739-748. DOI:10.1038/s41591-018-0036-4.
- [33] LEE D W, SANTOMASSO B D, LOCKE F L, et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2019, 25(4): 625-638. DOI:10.1016/j.bbmt.2018.12.758.
- [34] 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[J/OL]. *Blood*, 2019, 133(7): 697-709[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6376281/>. DOI:10.1182/blood-2018-10-881722.
- [35] MACKALL C L, MIKLOS D B. CNS endothelial cell activation emerges as a driver of CAR T cell-associated neurotoxicity[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(12): 1371-1373. DOI:10.1158/2159-8290.CD-17-1084.
- [36] GOFSHTEYN J S, SHAW P A, TEACHEY D T, et al. Neurotoxicity after CTL019 in a pediatric and young adult cohort[J/OL]. *Ann Neurol*, 2018, 84(4): 537-546[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6444896/>. DOI:10.1002/ana.25315.
- [37] KARSCHNIA P, JORDAN J T, FORST D A, et al. Clinical presentation, management, and biomarkers of neurotoxicity after adoptive immunotherapy with CAR-T cells[J]. *Blood*, 2019, 133(20): 2212-2221. DOI:10.1182/blood-2018-12-893396.
- [38] STERNER R M, COX M J, SAKEMURA R, et al. Using CRISPR/

- Cas9 to knock out GM-CSF in CAR-T cells[J/OL]. *J Visual Exp*, 2019, 2019(149): [2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31380838/>. DOI:10.3791/59629.
- [39] PATHAN N, HEMINGWAY C A, ALIZADEH A A, et al. Role of interleukin 6 in myocardial dysfunction of meningococcal septic shock[J]. *Lancet*, 2004, 363(9404): 203-209. DOI:10.1016/S0140-6736(03)15326-3.
- [40] TITOV A, PETUKHOV A, STALIAROVA A, et al. The biological basis and clinical symptoms of CAR-T therapy-associated toxicities[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(9): 897[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6123453/>. DOI:10.1038/s41419-018-0918-x.
- [41] BURSTEIN D S, MAUDE S, GRUPP S, et al. Cardiac profile of chimeric antigen receptor T cell therapy in children: a single-institution experience[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(8): 1590-1595. DOI:10.1016/j.bbmt.2018.05.014.
- [42] KOCHENDERFER J N, SOMERVILLE R P T, LU T Y, et al. Lymphoma remissions caused by anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells are associated with high serum interleukin-15 levels[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(16): 1803-1813[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5455597/>. DOI:10.1200/JCO.2016.71.3024.
- [43] JAMAL F A, KHALED S K. The cardiovascular complications of chimeric antigen receptor T cell therapy[J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2020. DOI:10.1007/s11899-020-00567-4.
- [44] CHOI B D, YU X L, CASTANO A P, et al. CAR-T cells secreting BiTEs circumvent antigen escape without detectable toxicity[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(9): 1049-1058. DOI:10.1038/s41587-019-0192-1.
- [45] KLOSS C C, CONDOMINES M, CARTELLIERI M, et al. Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(1): 71-75[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5505184/>. DOI:10.1038/nbt.2459.
- [46] ZAH E, LIN M Y, SILVA-BENEDICT A, et al. ADDENDUM: T cells expressing CD19/CD20 bispecific chimeric antigen receptors prevent antigen escape by malignant B cells[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(7): 639-641[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4943870/>. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-16-0108.
- [47] JIANG H, GAO H P, KONG J, et al. Selective targeting of glioblastoma with EGFRvIII/EGFR bitargeted chimeric antigen receptor T cell[J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(11): 1314-1326. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-18-0044.
- [48] GORNALUSSE G G, HIRATA R K, FUNK S E, et al. HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and Lysis by NK cells[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(8): 765-772 [2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5548598/>. DOI:10.1038/nbt.3860.
- [49] LI J, BYRNE K T, YAN F, et al. Tumor cell-intrinsic factors underlie heterogeneity of immune cell infiltration and response to immunotherapy[J/OL]. *Immunity*, 2018, 49(1): 178-193. e7[2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29958801/>. DOI:10.1016/j.immuni.2018.06.006.
- [50] SONG M, SANDOVAL T A, CHAE C S, et al. IRE1 α -XBP1 controls T cell function in ovarian cancer by regulating mitochondrial activity[J/OL]. *Nature*, 2018, 562(7727): 423-428[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6237282/>. DOI:10.1038/s41586-018-0597-x.
- [51] BAGLEY S J, O'ROURKE D M. Clinical investigation of CAR T cells for solid tumors: Lessons learned and future directions[J/OL]. *Pharmacol Ther*, 2020, 2020: 107419[2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31629009/>. DOI:10.1016/j.pharmthera.2019.107419.
- [52] ZHAO W, JIA L, ZHANG M, et al. The killing effect of novel bispecific Trop2/PD-L1 CAR-T cell targeted gastric cancer[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(8): 1846-1856[2020-01-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31497363/>.
- [53] RAFIQ S, YEKU O O, JACKSON H J, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy in vivo[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847-856[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6126939/>. DOI:10.1038/nbt.4195.
- [54] JUILLERAT A, MARECHAL A, FILHOL J M, et al. An oxygen sensitive self-decision making engineered CAR T-cell[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 39833[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5247770/>. DOI:10.1038/srep39833.
- [55] FU X P, RIVERA A, TAO L H, et al. Genetically modified T cells targeting neovasculature efficiently destroy tumor blood vessels, shrink established solid tumors and increase nanoparticle delivery[J/OL]. *Int J Cancer*, 2013, 133(10): 2483-2492[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3770832/>. DOI:10.1002/ijc.28269.
- [56] KONERU M, PURDON T J, SPRIGGS D, et al. IL-12 secreting tumor-targeted chimeric antigen receptor T cells eradicate ovarian tumors in vivo[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(3): e994446[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4404840/>. DOI:10.4161/2162402X.2014.994446.
- [57] 王润清, 杨丽黎, 李琳, 等. 肿瘤免疫治疗中改善CAR-T细胞耗竭的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(12): 1392-1399. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.12.016.
- [58] DIACONU I, BALLARD B, ZHANG M, et al. Inducible caspase-9 selectively modulates the toxicities of CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells[J/OL]. *Mol Ther*, 2017, 25(3): 580-592[2020-01-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5363196/>. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.01.011.
- [59] PANAGOPOULOU T I, RAFIQ Q A. CAR-T immunotherapies: Biotechnological strategies to improve safety, efficacy and clinical outcome through CAR engineering[J]. *Biotechnol Adv*, 2019, 37(7): 107411. DOI:10.1016/j.biotechadv.2019.06.010.
- [60] LABANIEH L, MAJZNER R G, MACKALL C L. Programming CAR-T cells to kill cancer[J]. *Nat Biomed Eng*, 2018, 2(6): 377-391. DOI:10.1038/s41551-018-0235-9.
- [61] JUNE C H, O'CONNOR R S, KAWALEKAR O U, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1361-1365. DOI:10.1126/science.aar6711.
- [62] 潘泽雁, 湛先保. 嵌合抗原受体T细胞治疗胰腺癌的现状 & 未来策略[J]. *中国癌症杂志*, 2019, 29(7): 481-482. DOI:10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.001.

[收稿日期] 2020-01-11

[修回日期] 2020-05-13

[本文编辑] 党瑞山