

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.04.012

## 嵌合抗原受体基因修饰 T 淋巴细胞治疗肺癌的研究进展和挑战

### Advances and challenges of chimeric antigen receptor gene modified-T lymphocyte therapy for lung cancer

孟月生 综述; 乔田奎 审阅(复旦大学附属金山医院 肿瘤中心, 上海 201508)

**[摘要]** 近年来,免疫疗法尤其是单克隆抗体靶向药物越来越多地应用于肺癌的临床治疗,但仍有很多局限性。嵌合抗原受体基因修饰 T 淋巴细胞(chimeric antigen receptor gene modified-T lymphocytes, CAR-T)疗法对于部分 B 细胞淋巴瘤和白血病的疗效显著,也为实体瘤的免疫治疗开辟了新途径。肺癌 CAR-T 疗法的热门靶点包括间皮素(MSLN)、黏蛋白突变体(TnMUC1)、表皮生长因子受体(EGFR)、人表皮生长因子受体 2(HER2)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体 1(ROR1)和  $\delta$  样配体 3(DLL3)等,但相关临床研究均处于早期探索阶段。所面临的主要障碍包括脱靶毒性、肿瘤免疫抑制微环境和 CAR-T 细胞体内效能不足等。通过基因编辑改进 CAR 结构、设计多靶点 CAR 或组合应用多靶点 CAR-T 细胞、精细调控 CAR-T 细胞体内动态分布、改进给药方式或联合其他免疫治疗等策略可能有助于解决这些问题。

**[关键词]** 肺癌;嵌合抗原受体基因修饰 T 淋巴细胞(CAR-T);免疫治疗;靶向治疗;临床试验

**[中图分类号]** R732.2; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)04-0392-06

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,病理学分为小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)两大类,后者又包括腺癌、鳞癌和未分化大细胞癌等主要类型。近年来,免疫疗法,尤其是单克隆抗体靶向药物越来越多地应用于肺癌的临床治疗,但仍有很多局限性。嵌合抗原受体基因修饰 T 淋巴细胞(chimeric antigen receptor gene modified-T lymphocytes, CAR-T)疗法是一种过继免疫细胞治疗(adoptive cell transfer, ACT),通过转基因方法将识别肿瘤抗原的单链抗体(single chain Fv, ScFv)导入 T 细胞受体(T receptor, TCR)形成 CAR。CAR-T 细胞经过体外扩增后输入患者体内后,可与肿瘤细胞表面抗原结合并被有效地激活,通过非主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性方式攻击肿瘤细胞<sup>[1]</sup>。近年来,临床上应用 CAR-T 疗法治疗部分血液淋巴系统肿瘤获得了巨大成功,但用于发病率更高的实体瘤方面仍存在许多技术瓶颈,但这是一个极为诱人的目标<sup>[2]</sup>。本文通过综述近年来 CAR-T 在治疗肺癌方面的相关临床研究,主要包括治疗靶点的选择、目前所面临的挑战以及相应对策的研究情况,以期为进一步的临床试验设计提供参考依据。

#### 1 CAR-T 治疗靶点选择与相关临床试验

实现 CAR-T 对肿瘤细胞特异性攻击的核心问题是选择合适的治疗靶点(肿瘤抗原)。肿瘤抗原按照特异性分为肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigen, TSA)和肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)两类,按照来源不同分为过度表达抗原、肿瘤辜

丸抗原/种系抗原和体细胞突变所形成的新抗原。TSA 只在肿瘤细胞中表达,在正常组织细胞中几乎不表达,是 CAR-T 疗法的最理想靶点。TAA 在肿瘤细胞中高表达,在正常组织中低表达。目前研究中的肺癌 CAR-T 治疗热门靶点已有 10 余种,包括间皮素(mesothelin, MSLN)、黏蛋白 Tn 突变体(Tn glycoform of MUC1, TnMUC1)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体 1(receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1, ROR1)和  $\delta$  样配体 3(delta-like ligand 3, DLL3)等<sup>[3]</sup>。

##### 1.1 MSLN

MSLN 是一种细胞膜糖蛋白,在多种实体瘤细胞中过度表达,包括肺癌、恶性胸膜间皮瘤(malignant pleural mesothelioma, MPM)、胰腺癌、胃癌和卵巢癌等。MSLN 在肺癌细胞表面和细胞质中都有表达,通过激活 PI3K、ERK 和 MAPK 通路促进肺癌细胞的增殖、浸润和转移。MSLN 在一些正常组织低表达,因此是一种较为理想的 CAR-T 治疗靶点。MSLN 在 MPM 和胰腺癌细胞中的表达阳性率和强度均高于

**[基金项目]** 上海市金山区医药卫生类科技创新资金项目(No. 2016-03-20)。Project supported by the Medical and Health Science and Technology Innovation Fund of Jinshan District of Shanghai (No. 2016-03-20)

**[作者简介]** 孟月生(1963-),男,博士,主任医师,主要从事肿瘤基因诊断与靶向治疗的临床研究, E-mail: mengysm@163.com

**[通信作者]** 乔田奎(QIAO Tiankui, corresponding author),硕士,主任医师,硕士生导师,主要从事肿瘤放疗与生物治疗的临床研究, E-mail: qiaotk@163.com

NSCLC,似乎更适合于MPM的治疗<sup>[4]</sup>。

美国国家卫生研究院(National Institutes of Health,NIH)一项较早期的临床试验(NCT01583686)用MSLN-CAR-T治疗晚期肿瘤(包括肺癌、胰腺癌、恶性间皮瘤、宫颈癌和卵巢癌)<sup>[5]</sup>,I期临床试验招募了15例患者,结果显示在3.5个月的观察期内只有1例病情稳定(SD),严重不良反应发生比例为6/15,其中贫血、血小板减少、便秘、低氧血症各1例,淋巴细胞减少2例,因此入组病例均未进入II期临床。最新一组临床试验(NCT02414269)<sup>[6]</sup>报道,应用单剂量胸腔注射MSLN-CAR-T细胞联合抗PD-1抗体治疗20例晚期胸部肿瘤,包括18例MPM、伴胸膜转移的肺癌和乳腺癌各1例。所有病例未观察到I级以上的毒性反应。14例患者后续接受了抗PD-1治疗,其中13例患者外周血中可检测到MSLN-CAR-T细胞,PET-CT随访确认2例获得完全缓解(CR)、5例部分缓解(PR)、4例SD。

### 1.2 TnMUC1

黏蛋白(MUC1,CD227)是一种大分子穿膜糖蛋白。某些腺癌细胞表达异常糖基化的MUC1,后者包括Tn和sTn两种结构。在正常人可检测到天然的Tn-IgM抗体,但无Tn结构。TnMUC1可能改变细胞的黏附和移动特性,有助于肿瘤远处扩散。蛋白的糖基化启动于多聚糖共价连接到天冬酰胺残基(N-连接)或丝氨酸/苏氨酸残基(Ser/Thr,O-连接),其中O-连接在N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)转移酶(GalNAc-Ts)作用下完成。附着于蛋白骨架的GalNAc残基在T合成酶作用下进一步延伸,形成所谓“核心1结构(Gal-GalNAc- $\alpha$ -Ser/Thr)”。“核心1结构”合成酶需要伴侣蛋白Cosmc,否则易于快速降解。因此,TnMUC1形成可能与T合成酶突变、Cosmc表观遗传学沉默或GalNAc-Ts表达异常等环节有关。美国宾夕法尼亚大学的一个研究组体外和动物实验均证实,TnMUC1-CAR-T细胞对Cosmc突变和TnMUC1双阳性的Jurket细胞以及TnMUC1阳性的胰腺癌细胞都有高效杀伤作用,一项治疗多种肿瘤(包括NSCLC)的临床试验已经启动(NCT04025216)。TnMUC1只在肿瘤细胞中表达,因而可能是一个理想的治疗靶点。但肿瘤新抗原的表达往往具有显著个体差异性,相应的CAR-T操作流程也需要高度个体化,其临床实际价值尚需观察<sup>[7]</sup>。

### 1.3 EGFR

EGFR又称HER1,属于ErbB受体酪氨酸激酶家族穿膜糖蛋白,在正常上皮组织中低表达,在上皮来源的肿瘤组织中高表达,在NSCLC表达率>60%,与肿瘤的血管生成、转移和复发有关<sup>[8]</sup>。2016年,FENG

等<sup>[9]</sup>报道了应用EGFR-CAR-T细胞治疗EGFR<sup>+</sup>复发/难治NSCLC临床试验(NCT01869166)的结果,在11例可评价患者中,未观察到严重不良反应,2例获得PR,5例SD(2~8个月不等)。同步所进行的EGFR-CAR-T细胞治疗19例复发/转移胆系恶性肿瘤(14例胆管癌和5例胆囊癌)的初步结果显示,在17例可评价患者中,1例获得CR,10例SD,中位无进展生存期(PFS)4个月(2.5~22个月),但有3例患者出现了III级以上的不良反应<sup>[10]</sup>。

### 1.4 HER2

HER2在多种实体瘤中高表达,与肿瘤细胞增殖、侵袭、转移和血管生成过程有关。HER2在NSCLC中阳性表达率大约40%,但在正常肺上皮细胞也有表达。首例用HER2-CAR-T细胞治疗肺和肝转移结肠癌患者出现了致命性的肺毒性<sup>[11-12]</sup>。美国休斯敦Baylor医学院2020年启动了一项临床试验(NCT03740256),联合HER2-CAR-T细胞和局部注射一种溶瘤腺病毒治疗包括肺癌在内的HER2<sup>+</sup>晚期肿瘤。国内一项临床试验(NCT03198052)<sup>[13]</sup>将单独或联合使用多种CAR-T细胞治疗肺癌,包括HER2、MSLN、Lewis-Y、前列腺干细胞抗原(prostate stem cell antigen,PSCA)、MUC1、PD-L1、CD80/86等靶点。

### 1.5 ROR1

ROR1抗原表达于B细胞慢性淋巴细胞白血病(B cell chronic lymphoblastic leukemia,B-CLL)、套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma,MCL)、急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic leukemia,ALL)、肺癌、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、肾细胞癌和卵巢癌等细胞,在成人正常组织中表达极低<sup>[14]</sup>。美国西雅图Fred Hutchinson癌症中心已启动一项临床试验(NCT02706392),研究ROR1-CAR-T细胞治疗晚期转移NSCLC和三阴性乳腺癌的安全性和有效性。已招募的30例患者中至少有6例未显示剂量限制性毒性(dose-limiting toxicity,DLT)。这种CAR-T细胞受体部分还插入了一个EGFR剪切片段,以备产生严重毒性反应时将其清除<sup>[15]</sup>。

### 1.6 DLL3

DLL3是一种Notch受体的抑制性配体。免疫组化检测证明80%以上SCLC细胞膜和细胞质都有DLL3蛋白表达,在其他一些神经内分泌肿瘤(包括黑色素瘤、多形性胶质细胞瘤、小细胞膀胱癌、转移性去势抵抗性前列腺癌等)中高表达,而在极少数正常细胞(包括神经元、胰岛和垂体细胞)细胞膜中低表达<sup>[16]</sup>。DLL3表达上调导致Notch信号通路受抑制<sup>[17]</sup>。一项正在进行的DLL3-CAR-T细胞治疗复发/难治SCLC临床试验(AMG119,NCT03392064)<sup>[18]</sup>目

前尚未发布结果。在另一项临床试验(AMG575, NCT03319940)<sup>[19]</sup>中, Amgen 公司研发了一种双特异性 T 细胞结合体, 将 DLL3 的 ScFv 与抗 T 细胞抗原 CD3 $\epsilon$  部分 ScFv 用短肽链连接在一起, 从而特异性地刺激 SCLC 患者 T 细胞增殖和溶解 SCLC 细胞。

### 1.7 其他

黑色素瘤抗原基因(melanoma antigen gene, MAGE)类抗原属于睾丸抗原/种系抗原, 在多种实体瘤中表达。2011年, 美国国立癌症研究所(NCI)<sup>[20]</sup>最早用 MAGE-3-CAR-T 细胞治疗的 9 例实体瘤患者中, 有 3 例出现了严重的神经症状, 并最终导致 2 例患者死亡。与此同时, 宾夕法尼亚大学的 MAGE-3-

CAR-T 临床试验有 2 例患者死于心源性休克。进一步研究发现, 抗 MAGE-3 的 TCR 分别与脑内 MAGE-12 和心肌联蛋白发生了交叉反应。MAO 等<sup>[21]</sup>应用大数据筛选出一个肺腺癌相关 MAGE-A1 抗原, 临床前研究证明, MAGE-1-CAR-T 细胞治疗肺腺癌是有效的和安全的。其他肺癌治疗候选靶点还有很多, 包括酪氨酸激酶受体 EphA2、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (GPC3)、叶酸受体(FR $\alpha$  和 FR $\beta$ )、CD44v6、PSCA、癌胚抗原(CEA)、L1 细胞黏附分子(L1CAM)和双唾液酸神经节苷脂(GD2)等<sup>[22-25]</sup>, 尚未进入临床研究阶段。目前已启动的代表性临床试验项目见表 1。

表 1 应用 CAR-T 治疗肺癌的代表性临床试验

靶点	进展情况	研究机构	临床试验注册号
MSLN <sup>[6]</sup>	2015 年启动 I / II 期, 受试者仍在招募中; 2020 报道 MSLN-CAR-T 联合 PD1 抗体治疗 20 例晚期胸部肿瘤, 未观察到明显毒性	纽约 Memorial Sloan Kettering 癌症中心	NCT02414269
TnMUC1	2019 年启动 I 期, 用 TnMUC1-CAR-T 细胞治疗包括 NSCLC 在内的多种肿瘤	Tmunity Therapeutics 公司; 宾夕法尼亚大学	NCT04025216
EGFR <sup>[9]</sup>	2013 年启动 I / II 期试验; 2016 年报道 11 例可评价患者中, 未观察到严重不良反应, 2 例获得 PR, 5 例 SD(2~8 个月)	解放军总医院	NCT01869166
HER2	2017 年启动 I 期试验, 受试者招募中	广州医科大学附属第二医院	NCT03198052
ROR1	2016 年启动 I 期, 已招募的 30 例患者中至少有 6 例未显示剂量限制性毒性	Fred Hutchinson 癌症中心; 华盛顿大学	NCT02706392
DLL3	2018 年启动 I 期, 尚未开始招募受试者	Amgen 公司	NCT03392064

## 2 CAR-T 治疗面临的挑战与对策

总体而言, CAR-T 细胞治疗肺癌的研究仍处于较早期探索阶段, 大量临床试验项目进展缓慢, 疗效非常有限, 仍有若干技术瓶颈有待突破。与其他实体瘤相似, CAR-T 细胞治疗肺癌的几个主要挑战包括脱靶毒性、肿瘤免疫抑制微环境与 CAR-T 细胞体内效能不足或过强等, 如何克服这些障碍正是目前 CAR-T 研究的热点领域。

### 2.1 靶抗原异质性与脱靶毒性

CAR-T 细胞治疗实体瘤的首要问题仍是缺乏较成熟的攻击靶点。最理想的靶点应该只表达于肿瘤细胞(尤其是肿瘤干细胞)中, 并且是高强度、高频率表达, 而在正常组织细胞中无表达或极低水平表达。如果抗原表达组织特异性差, CAR-T 细胞就会损伤相应的正常细胞, 造成所谓脱靶毒性。CD19-CAR-T 治疗 B 细胞肿瘤也存在脱靶问题, 因为无论是恶性 B 细胞还是正常成熟 B 细胞均表达 CD19, 但正常 B 细胞具有较强再生能力, 而且体内存量的免疫球蛋白

不会受到 CAR-T 治疗的显著影响。实体瘤细胞表面抗原不仅抗原性较弱, 而且缺乏特异性和稳定性, 是影响 CAR-T 疗效的主要障碍之一。研究者正在探索各种对策, 一个重要思路就是同时靶向两种或多种肿瘤抗原, 包括设计多靶点 CAR-T 细胞或组合应用多种针对不同靶点的 CAR-T 细胞<sup>[26]</sup>。

LIM 实验室<sup>[27]</sup>报道了一个双特异性 CAR-T 细胞序贯激活系统, 其原理是合成两种针对不同肿瘤抗原的 CAR(CAR1 和 CAR2)。CAR1 胞内结构部分引入一个人工合成的 Notch 受体结构域(SynNotch), 将 CAR1 导入 T 细胞即可获得表达, 但 CAR2 被整合入 T 细胞基因组后, 其表达需要一个特定的 Notch 转录激活因子。CAR1 与抗原 1 结合后, 其胞内 SynNotch 发生蛋白水解, 释放 Notch 转录激活因子, 后者进入 T 细胞核内后方可激活 CAR2 的转录和蛋白合成。然后, CAR2 穿膜蛋白才能与靶细胞的抗原 2 结合。因此, 只有表达两种抗原的肿瘤细胞才能激发完整的 T 细胞免疫应答, 仅表达一种抗原的正常细胞即可免受这一系统的免疫损伤。体外和动物实验证明, 他

们所构建的抗 GFP 和抗 CD19 双特异性 CAR-T 细胞 SynNotch 序贯激活系统能够特异性地杀伤表达双抗原的 K562 肿瘤细胞。进一步研究<sup>[28]</sup>发现, 这种 SynNotch CAR-T 细胞能够分泌多种细胞因子、表达细胞死亡受体的配体或免疫检测点抗体和分化成不同 T 细胞亚群。SRIVASTAVA 等<sup>[29]</sup>报道 SynNotch 序贯激活双特异性 CAR-T 细胞可以有效地靶向攻击 B7-H3<sup>+</sup>ROR1<sup>+</sup> 肿瘤细胞。多种人类肿瘤包括肺癌、乳腺癌和卵巢癌等表达 B7-H3 和 ROR1 双抗原, 而骨髓和脾基质细胞只有 ROR1 表达。但在循环肿瘤负荷较高的小鼠, 这种双特异性 CAR-T 细胞对 ROR1<sup>+</sup> 正常细胞也造成损伤, 提示如果双抗原肿瘤细胞与单抗原正常细胞的空间距离太近, 这种双特异性 CAR-T 细胞不能区别敌我。

CHO 等<sup>[30]</sup>设计的一个所谓通用型 CAR-T 也十分引人注目。他们在 CAR 的 ScFv 与穿膜和胞内结构域之间插入一个可调控的亮氨酸拉链, 这样的话, 其抗原结合区就可以方便地替换成各种 ScFv, 因而称之为可程式 (split, universal and programmable, SUPRA) CAR-T 疗法。

组合应用两种或多种不同靶点 CAR-T 细胞的一些临床试验亦已启动。多种 CAR-T 细胞的体内动力学更加复杂, 需要精准调控其操作细节以达到最佳效果并保证其安全性。

## 2.2 肿瘤免疫抑制微环境

肿瘤在发生和发展过程中通过多种复杂机制逃避机体免疫系统的监视与清除, 即免疫逃逸。肿瘤细胞可以释放多种免疫抑制因子, 包括 VEGF、IL-4、IL-10、TGF- $\beta$  和前列腺素 E2 等, 导致一些抑制性免疫细胞如调节性 T 细胞、髓源性抑制细胞和肿瘤相关巨噬细胞等的活化。肿瘤免疫抑制微环境是引起 T 细胞耗竭和影响 CAR-T 细胞免疫应答能力的重要因素<sup>[31]</sup>。

近年已关注到免疫检查点在免疫逃逸中的重要作用。免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI), 尤其是抗 PD-1/PD-L1 和抗 CTLA4 抗体已经开始应用于多种实体瘤的临床治疗, 但单用 ICI 的有效率一般 <40%。肿瘤抗原负荷过多时, 由于 PD-1 表达上调可导致浸润于肿瘤中的 CAR-T 细胞耗竭。因此, 研究者们<sup>[32]</sup>试图通过基因编辑等方法进一步优化 CAR-T 结构, 设计 CAR-T 细胞共表达 PD-1 “显性负受体 (dominant negative receptor)”、分泌 PD-1 抗体、共表达细胞因子或受体, 结合连续 CAR-T 细胞输注增强其疗效。国内一组临床试验 (NCT02793856)<sup>[33]</sup>测试了应用 CRISPR-Cas9 敲除 T 细胞检查点抑制基因 PD-1 治疗 22 例晚期转移

NSCLC 的体内安全性, 17 例患者获得了足够数量的 T 细胞, 12 例患者具备接受治疗条件。细胞输注后, 在患者外周血中可以检测到 CRISPR-Cas9 基因编辑的 T 细胞, 患者中位 PFS 为 7.7 周, 中位生存期为 42.6 周。治疗相关不良反应均在 II 级以下, 非靶基因部位突变频率为 0.05%, 认为这种 CRISPR-Cas9 基因编辑的 T 细胞体内应用总体来说是安全、可行的。

## 2.3 CAR-T 细胞体内动态与作用的精细调控

CAR-T 细胞体内动态分布、增殖调控、激活状态和持续时间等亦是影响 CAR-T 疗效的重要因素。目前尚缺乏精确评估与调控这些参数的有效手段。与血液淋巴系统肿瘤不同, 肺癌细胞负荷所形成的实性包块构成强大的物理屏障, 阻碍血循环中的 CAR-T 细胞向肿瘤组织中浸润。改变 CAR-T 细胞的给药方式, 也许对解决这一问题具有一定的作用。例如, ADUSUMILLI 等<sup>[6]</sup>在临床试验中观察到, 单剂量胸腔注射的 MSLN-CAR-T 细胞, 也出现在晚期胸部肿瘤患者外周血中并且可持续数月, 应该有助于清除远处转移的肿瘤细胞。其他解决方案还包括: (1) CAR-T 细胞与其他免疫治疗方法组合应用, 如联合使用细胞因子或 TCR 基因编辑等<sup>[34]</sup>; (2) CAR-T 细胞中导入去除免疫抑制因子的基因调控元件, 如导入显性负 TGF- $\beta$  受体基因、嫁接 IL-4 受体结构使之抑制信号转化为刺激性信号、或表达过氧化氢酶基因以对抗反应性氧自由基等<sup>[35]</sup>。

CAR-T 细胞的杀伤作用虽然是非 MHC 依赖性的, 但只能作用于细胞表面的抗原靶点, 而更多的实体瘤相关抗原 (如 TSA 或 TAA) 位于细胞内。TCR 基因疗法通过基因编辑 TCR 获得 TCR 样抗体, 以 MHC 依赖方式攻击胞内抗原, 但所激发的免疫反应太弱仍不足以清除体内肿瘤负荷 (也许在不久的将来这一方面会有突破性进展)。因此, MAUS 等<sup>[36]</sup>研究 CAR-T 技术与 TCR 基因疗法相结合, 将 TCR 样抗体结构导入 CAR 中, 构建所谓 TCR 样 CAR-T 细胞 (TCR-like CAR-T), 这种细胞理论上能够以 MHC 依赖性方式识别肿瘤细胞内抗原, 将显著增加 CAR-T 细胞所能攻击的靶点。

CAR-T 细胞体内免疫应答过强又会产生细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS)。除了阻断 IL-6 和 IL-1 途径外, 一些研究者<sup>[37]</sup>尝试通过改变 CAR 基因转染方式、导入“自杀基因”以及利用纳米微粒调控 CAR-T 细胞的体内寿命和动力学, 用来削弱或避免 CRS。例如用电穿孔法介导 CAR 在 T 细胞短暂表达 (不整合入基因组), 理论上可以减轻 CRS 和脱靶毒性。限于篇幅, 本文不作详述。

### 3 结 语

综上所述,作为肺癌免疫治疗的一个新方向,CAR-T 疗法已经起步。肺癌的热门靶点包括 MSLN、TnMUC1、EGFR、HER2、ROR1 和 DLL3 等。目前所面临的主要障碍包括脱靶毒性、肿瘤免疫抑制微环境和 CAR-T 细胞体内效能不足等。未来可能通过基因编辑改进 CAR 结构、设计多靶点 CAR 或组合应用多靶点 CAR-T 细胞、精细调控 CAR-T 细胞体内动态分布、改进给药方式,以及联合其他免疫治疗方法(如 ICI)等有效地解决这些问题。笔者相信随着相关技术和策略的推进,CAR-T 疗法广泛应用于肺癌和其他实体瘤的临床治疗已不再是遥不可及的。

### [参 考 文 献]

- [1] BHARGAVA A, MISHRA D K, TIWARI R, et al. Immune cell engineering: opportunities in lung cancer therapeutics[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2020, 10(5): 1203-1227. DOI: 10.1007/s13346-020-00719-2.
- [2] GARBER K. Driving T-cell immunotherapy to solid tumors[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(3): 215-219. DOI:10.1038/nbt.4090.
- [3] ZELTSMAN M, DOZIER J, MCGEE E, et al. CAR T-cell therapy for lung cancer and malignant pleural mesothelioma[J/OL]. *Transl Res*, 2017, 187: 1-10[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5581988/>. DOI:10.1016/j.trsl.2017.04.004.
- [4] KIEGEN S, CHICAYBAM L, CHINTALA N K, et al. Chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy for thoracic malignancies[J]. *J Thorac Oncol*, 2018,13(1):16-26. DOI:10.1016/j.jtho.2018.10.001.
- [5] MORELLO A, SADELAIN M, ADUSUMILLI P S. Mesothelin-targeted CARs: driving T cells to solid tumors[J/OL]. *Cancer Discov*, 2016, 6(2): 133-146[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4744527/>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0583.
- [6] ADUSUMILLI P S, ZAUDERER M G, RUSCH V W, et al. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cells for pleural cancers: Safety and preliminary efficacy in combination with anti-PD-1 agent[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15 suppl): 2511. DOI: 10.1200/jco.2019.37.15\_suppl.2511.
- [7] POSEY A D Jr, SCHWAB R D, BOESTEANU A C, et al. Engineered CAR T cells targeting the cancer-associated Tn-glycoform of the membrane mucin MUC1 control adenocarcinoma[J]. *Immunity*, 2016, 44(6): 1444-1454. DOI:10.1016/j.immuni.2016.05.014.
- [8] LI H, HUANG Y, JIANG D Q, et al. Antitumor activity of EGFR-specific CAR T cells against non-small-cell lung cancer cells in vitro and in mice[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 177. DOI:10.1038/s41419-017-0238-6.
- [9] FENG K C, GUO Y L, DAI H R, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of patients with EGFR-expressing advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer [J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 59(5): 468-479. DOI:10.1007/s11427-016-5023-8.
- [10] GUO Y L, FENG K C, LIU Y, et al. Phase I study of chimeric antigen receptor-modified T cells in patients with EGFR-positive advanced biliary tract cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(6): 1277-1286. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-0432.
- [11] CHEN N, LI X Y, CHINTALA N K, et al. Driving CARs on the uneven road of antigen heterogeneity in solid tumors[J/OL]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 51: 103-110[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5943172/>. DOI:10.1016/j.coi.2018.03.002.
- [12] 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[J/OL]. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 843-851[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2862534/>. DOI:10.1038/mt.2010.24.
- [13] WEI X, LAI Y, LI J, et al. PSCA and MUC1 in non-small-cell lung cancer as targets of chimeric antigen receptor T cells[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(3): e1284722[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5384358/>. DOI:10.1080/2162402x.2017.1284722.
- [14] BALAKRISHNAN A, GOODPASTER T, RANDOLPH-HABECKER J, et al. Analysis of ROR1 protein expression in human cancer and normal tissues[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(12): 3061-3071[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5440207/>. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-16-2083.
- [15] SPECHT J M, LEE S, TURTLE C, et al. Phase I study of immunotherapy for advanced ROR1<sup>+</sup> malignancies with autologous ROR1-specific chimeric antigen receptor-modified (CAR)-T cells[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(5 suppl): TPS79. DOI: 10.1200/jco.2018.36.5\_suppl.tps79.
- [16] OWEN D H, GIFFIN M J, BAILIS J M, et al. DLL3: an emerging target in small cell lung cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 61. DOI:10.1186/s13045-019-0745-2.
- [17] TANAKA K, ISSE K, FUJIHIRA T, et al. Prevalence of Delta-like protein 3 expression in patients with small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2018, 115: 116-120. DOI:10.1016/j.lungcan.2017.11.018.
- [18] BYERS L A, CHIAPPORI A, SMIT M A D. Phase I study of AMG 119, a chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy targeting DLL3, in patients with relapsed/refractory small cell lung cancer (SCLC)[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15 suppl): TPS8576. DOI: 10.1200/jco.2019.37.15\_suppl.tps8576.
- [19] SMIT M A D, BORGHAEI H, OWONIKOKO T K, et al. Phase I study of AMG 757, a half-life extended bispecific T cell engager (BiTE) antibody construct targeting DLL3, in patients with small cell lung cancer (SCLC) [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15 Suppl): TPS8577. DOI:10.1200/jco.2019.37.15\_suppl.tps8577.
- [20] MORGAN R A, CHINNASAMY N, ABAT-DAGA D, et al. Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy[J]. *J Immunother*, 2013, 36(2):133-151. DOI:10.1097/CJI.0b013e3182829903.
- [21] MAO Y, FAN W F, HU H, et al. MAGE-A1 in lung adenocarcinoma as a promising target of chimeric antigen receptor T cells[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 106[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6805483/>. DOI:10.1186/s13045-019-0793-7.
- [22] LIN, LIU S H, SUN M J, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells redirected to EphA2 for the immunotherapy of non-small cell lung cancer[J/OL]. *Transl Oncol*, 2018, 11(1): 11-17[2020-09-

- 10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5684428/>. DOI:10.1016/j.tranon.2017.10.009.
- [23] SHIMIZU Y, SUZUKI T, YOSHIKAWA T, et al. Next-generation cancer immunotherapy targeting glypican-3[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 248. DOI:10.3389/fonc.2019.00248.
- [24] CHU W Q, ZHOU Y X, TANG Q, et al. Bi-specific ligand-controlled chimeric antigen receptor T-cell therapy for non-small cell lung cancer[J]. *Biosci Trends*, 2018, 12(3): 298-308. DOI: 10.5582/bst.2018.01048.
- [25] PORCELLINI S, ASPERTI C, CORNA S, et al. CAR T cells redirected to CD44v6 control tumor growth in lung and ovary adenocarcinoma bearing mice[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 99. DOI:10.3389/fimmu.2020.00099.
- [26] 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.
- [27] ROYBAL K T, RUPP L J, MORSUT L, et al. Precision tumor recognition by T cells with combinatorial antigen-sensing circuits [J/OL]. *Cell*, 2016, 164(4): 770-779[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4752902/>. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.011.
- [28] ROYBAL K T, WILLIAMS J Z, MORSUT L, et al. Engineering T cells with customized therapeutic response programs using synthetic notch receptors[J/OL]. *Cell*, 2016, 167(2): 419-432[2020-09-10]. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.09.011>. DOI: 10.1016/j.cell.2016.09.011.
- [29] SRIVASTAVA S, SALTER A I, LIGGITT D, et al. Logic-gated ROR1 chimeric antigen receptor expression rescues T cell-mediated toxicity to normal tissues and enables selective tumor targeting [J/OL]. *Cancer Cell*, 2019, 35(3): 489-503.e8[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6450658/>. DOI: 10.1016/j.ccell.2019.02.003.
- [30] CHO J H, COLLINS J J, WONG W W. Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses[J/OL]. *Cell*, 2018, 173(6): 1426-1438[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5984158/>. DOI:10.1016/j.cell.2018.03.038.
- [31] 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.
- [32] STOIBER S, CADILHA B L, BENMEBAREK M R, et al. Limitations in the design of chimeric antigen receptors for cancer therapy[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(5): E472[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6562702/>. DOI:10.3390/cells8050472.
- [33] LU Y, XUE J X, DENG T, et al. Safety and feasibility of CRISPR-edited T cells in patients with refractory non-small-cell lung cancer [J]. *Nat Med*, 2020, 26(5): 732-740. DOI: 10.1038/s41591-020-0840-5.
- [34] GROSSER R, CHERKASSKY L, CHINTALA N, et al. Combination immunotherapy with CAR T cells and checkpoint blockade for the treatment of solid tumors[J/OL]. *Cancer Cell*, 2019, 36(5): 471-482 [2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7171534/>. DOI:10.1016/j.ccell.2019.09.006.
- [35] SANGHERA C, SANGHERA R. Immunotherapy-strategies for expanding its role in the treatment of all major tumor sites[J/OL]. *Cureus*, 2019, 11(10): e5938[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6858270/>. DOI:10.7759/cureus.5938.
- [36] MAUS M V, PLOTKIN J, JAKKA G, et al. An MHC-restricted antibody-based chimeric antigen receptor requires TCR-like affinity to maintain antigen specificity[J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3: 1-9[2020-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5904357/>. DOI:10.1038/mt.2016.23.
- [37] BHARGAVA A, MISHRA D K, TIWARI R, et al. Immune cell engineering: opportunities in lung cancer therapeutics[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2020, 10(5): 1203-1227. DOI: 10.1007/s13346-020-00719-2.

[收稿日期] 2020-09-12

[修回日期] 2021-02-19

[本文编辑] 党瑞山