

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.001

· 专家论坛 ·

嵌合抗原受体修饰的免疫细胞及其在肿瘤免疫治疗中的应用

陈锦, 张彩(山东大学 药学院 免疫药物学研究所, 山东 济南 250012)



张彩 教授、免疫药物学博士生导师, 国家科学技术奖励评审专家。中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会委员, 山东省免疫学会常务理事、基础免疫专业委员会副主任委员, 山东省医药生物技术协会常务理事、细胞治疗技术与标准化专业委员会副主任委员, 亚太医学生物免疫学会理事、肝脏病学分会委员; 中国免疫学杂志、*Cell Mol Immunol*、*Cytokine*、*BMC Immunol* 和 *Engineering* 的编委。主要从事肿瘤免疫学、肝脏免疫学和肿瘤免疫治疗等方面的研究, 主持国家自然科学基金重大研究计划重点项目一项、国家自然科学基金重大研究计划培育项目两项, 国家自然科学基金面上项目四项, 国家重点基础研究计划项目子课题两项、“十一五”国家科技重大专项子课题一项。以第一或通信作者身份在 *Nat Commun*、*Hepatology* 和 *J Hepatol* 等国际高水平杂志发表论文 40 余篇, 获国家发明专利 4 项。

[摘要] 嵌合抗原受体修饰的 T(chimeric antigen receptor-modified T, CAR-T) 细胞是指通过基因修饰技术将带有特异性抗原识别结构域及 T 细胞激活信号的遗传物质转入 T 细胞并表达, 使 T 细胞能直接与肿瘤细胞表面的特异性抗原相结合而被激活的细胞疗法。近年来, CAR-T 细胞在血液病治疗中取得了显著的效果, 为血液肿瘤患者带来了新的希望, 已成为最有希望的肿瘤免疫治疗方法之一, 成为各大企业研发的热点。但是由于 CAR-T 细胞疗法会产生细胞因子风暴等不良反应及对实体瘤的治疗效果不佳, 使得 CAR-T 细胞的临床应用仍面临挑战。除 T 细胞之外, 研究人员正在探讨将 CAR 运用到其他免疫细胞上, 例如对 NK 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、NKT 细胞、巨噬细胞等免疫细胞进行修饰, 以提高这些免疫细胞杀伤肿瘤的效果, 同时降低 CAR-T 细胞免疫治疗所带来的不良反应。本文通过比较 CAR 修饰不同的免疫细胞在肿瘤治疗中的优点和缺点, 为 CAR 修饰免疫细胞在肿瘤免疫治疗中的临床开发和应用提供新的思路和启示。

[关键词] 肿瘤; 嵌合抗原受体; T 细胞; NK 细胞; $\gamma\delta$ T 细胞; NKT 细胞; 巨噬细胞; 免疫治疗

[中图分类号] R392; R730.51; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)06-0549-09

Chimeric antigen receptor-modified immune cells and their application in tumor immunotherapy

CHEN Jin, ZHANG Cai (Institute of Immunopharmaceutical Science, School of Pharmaceutical Science, Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

[Abstract] Chimeric antigen receptor-modified T cells (CAR-T cells) refers to the products after transferring genetic material with specific antigen recognition domain and T cell activation signal domains into T cells by gene modification technology, thus rendering the modified T cells activated by binding directly to specific antigens on the surface of tumor cells in the CAR-T cell therapy. In recent years, CAR-T cells have achieved remarkable results in the treatment of hematological diseases, bringing new hope to patients with hematological tumors. CAR-T cell therapy has become one of the most promising tumor immunotherapies, and CAR-T cells have become a hot spot for research and development by major companies. However, due to the side effects such as cytokine storm and poor treatment effect on solid tumors, the clinical application of CAR-T cells still faces challenges. In addition to traditional T cells, other immune cells are being explored for the application of CAR, for example, modifying immune cells such as NK cells, $\gamma\delta$ T cells, NKT cells, and macrophages to improve the effectiveness of these immune cells in killing tumors, and simultaneously reduce the adverse reactions caused by CAR-T cell immunotherapy. This review compares the advantages and disadvantages of different CAR-modified immune cells in tumor therapy and provides new ideas and enlightenments for the clinical development and application of

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81771686); 山东省重点研发计划(重大科技创新工程)资助项目(No.2019JZZY021013)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81771686), and the Shandong Provincial Key Research and Development Program (Major Scientific and Technological Innovation Project) (No. 2019JZZY021013)

[作者简介] 陈锦(1995—), 男, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫治疗的相关研究, E-mail: 1670826056@qq.com

[通信作者] 张彩(ZHANG Cai, corresponding author), E-mail: caizhangsd@sdu.edu.cn

CAR-modified immune cells in tumor immunotherapy.

[Key words] tumor; chimeric antigen receptor; T cell; NK cell; $\gamma\delta$ T cell; NKT cell; macrophage; immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(6): 549-557. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.001]

嵌合抗原受体修饰的T(chimeric antigen receptor-modified T, CAR-T)细胞为目前有效的血液恶性肿瘤治疗方式之一^[1-3],其由多个明确功能域的融合蛋白构成,包括胞外抗原结合域[如识别CD19的单链抗体(single-chain variable fragment, scFv)序列]、穿膜域和胞内信号转导域。胞内信号域负责传递T细胞活化的信号,包括T细胞激活结构域(CD3 ζ , 提供T细胞活化第一信号)以及一个或多个胞内共刺激结构域(CD28或4-1BB, 提供T细胞活化第二信号)^[4-6]。到目前为止, CAR-T细胞已经发展到第四代,从最原始的胞内段为CD3 ζ 的第一代CAR-T细胞发展到增加1~2个促进T细胞增殖活化的共刺激信号的第二代和第三代CAR-T细胞,最新研究发展到通过增加细胞因子、趋化因子、自杀基因等表达的第四代CAR-T细胞^[7]。CAR-T细胞在难治性急、慢性白血病以及淋巴瘤等血液肿瘤治疗中取得了令人瞩目的效果,但是由于会产生细胞因子风暴等不良反应及对实体瘤的治疗效果不佳,使CAR-T细胞的临床应用仍面临挑战^[8-10]。通过CAR修饰其他免疫细胞来减少不良反应、增加抗肿瘤效果、缩减治疗周期和治疗成本、使其成为像药品一样的现成的(off-the-shelf)治疗方式等多方面的开发有可能改善CAR-T细胞在临床治疗中面临的问题。本文在初步总结CAR-T细胞临床应用面临的问题和挑战的基础上,阐述了CAR修饰除传统T细胞以外的不同免疫细胞的研发和临床应用现状及其优缺点,希望为未来肿瘤免疫治疗提供新的思路和启示。

1 CAR-T细胞临床应用面临的挑战

目前CAR-T细胞在血液恶性肿瘤治疗中已经取得了显著的效果,FDA已经批准五款CAR-T产品用于临床治疗,其中有四款靶向CD19的CAR-T细胞产品^[11],分别是诺华公司的tisagenlecleucel(商品名为Kymriah)用于治疗急性淋巴细胞性白血病(2017年8月获批),吉利德公司的axicabtagene ciloleucel(商品名为Yescarta)用于治疗复发性难治性大B细胞淋巴瘤(2017年10月获批)以及brexucabtagene autoleucel(商品名为Tecartus)用于治疗复发/难治性套细胞淋巴瘤(2020年7月获批),百时美施贵宝公司的lisocabtagene maraleucel(商品名为Breyanzi)用于治疗复发或难治性大B细胞淋巴瘤(2021年2月获批)。

2021年3月FDA批准了首款靶向BCMA的CAR-T产品上市,由百时美施贵宝公司和bluebird bio(蓝鸟)公司共同研发的idecabtagene vicleucel(商品名为Abecma),用于治疗复发或难治性多发性骨髓瘤(表1)。但是,CAR-T细胞在临床应用中仍面临着巨大挑战:(1)CAR-T细胞大多数靶点都在正常组织中共同表达,它会识别正常细胞的靶抗原从而产生脱靶效应;(2)CAR-T细胞在体内的存活周期短,活化会产生大量炎症因子而引起细胞因子风暴及神经毒性等不良反应^[12];(3)实体瘤高度异质性的免疫微环境使CAR-T细胞对实体瘤治疗效果不佳,实体瘤外周由肿瘤相关成纤维细胞和硫酸乙酰肝素蛋白多糖构成的细胞外基质使CAR-T细胞难以浸润至实体瘤内部;(4)多种免疫抑制细胞和抑制性细胞因子会抑制肿瘤浸润的CAR-T细胞的活性,如调节性T(regulatory T, Treg)细胞、肿瘤相关巨噬细胞(tumour-associated macrophage, TAM)、骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-4等;(5)实体瘤中免疫抑制检查点、肿瘤缺氧和代谢等不利因素都会降低CAR-T细胞功效和活性,影响CAR-T细胞的治疗效果^[13]。目前多种CAR-T细胞研发策略旨在解决上述临床应用中存在的问题,例如设计双靶点、“开关式”的CAR-T细胞以减少脱靶率,建立自分泌IL-15或者IL-18等细胞因子的CAR-T细胞来增强CAR-T细胞体内治疗的持久性,与其他药物联合用药以降低细胞因子风暴和神经毒性不良反应等,利用溶瘤病毒载体可以直接溶解肿瘤细胞的特性建立分泌肝素酶或者基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)的CAR-T细胞或表达趋化因子受体的CAR-T细胞使其能够穿过肿瘤外基质、促进CAR-T细胞浸润至实体瘤内部^[12,14](表2)。

虽然CAR-T细胞在临床应用中取得了令人振奋的治疗效果,但是其引起的不良反应和对实体瘤治疗效果不佳都是不可忽视的问题。现有的解决方案只能针对单一问题来解决CAR-T细胞治疗遇到的挑战,不能完全、根本地解决所有问题。而临床前数据,甚至最初的临床研究都表明,利用NK细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、NKT细胞等免疫细胞固有的抗肿瘤活性、体外扩增和安全性都取得了良好的效果。因此,开发CAR修饰的其他免疫细胞进行肿瘤免疫治疗能够极大地促进CAR策略的临床发展。

表1 已投入临床应用的CAR-T细胞产品

产品名称(商品名)	靶点	适应证	不良反应
Tisagenlecleucel (Kymriah)	CD19	B细胞前体急性淋巴细胞性白血病 复发或难治性弥漫大B细胞淋巴瘤	22%患者发生3~4级的细胞因子风暴、12%患者发生3~4级神经相关的不良反应
Axicabtagene ciloleucel (Yescarta)	CD19	复发或难治性大B细胞淋巴瘤 复发或难治性滤泡性淋巴瘤	13%患者发生3级以上的细胞因子风暴、28%患者发生3级以上神经相关不良反应
Brexucabtagene autoleucel (Tecartus)	CD19	复发或难治性套细胞淋巴瘤	18%患者发生3级以上细胞因子风暴、37%的患者发生神经相关不良反应
Lisocabtagene maraleucel (Breyanzi)	CD19	复发或难治性大B细胞淋巴瘤	2%患者出现3~4级细胞因子风暴
Idecabtagene vicleucel (Abecma)	BCMA	复发或难治性多发性骨髓瘤	4%患者发生3级以上细胞因子风暴、18%的患者发生神经相关不良反应

表2 CAR-T细胞治疗面临的挑战及其解决方案

挑战	限制因素	解决方案
肿瘤基质	肿瘤相关成纤维细胞 硫酸类肝素蛋白多糖	靶向FAP CAR-T细胞 分泌肝素酶的CAR-T细胞 使用溶瘤病毒
抑制性细胞因子 肿瘤代谢和缺氧	IL-4 蛋白激酶A IDO	4/7 ICR CAR-T细胞 靶向RIAD CAR-T细胞 使用IDO抑制剂
免疫抑制细胞 免疫抑制检查点	MDSC、TAM CTLA-4、PD-1	靶向ALTRA CAR-T细胞 分泌CTLA-4抗体的CAR-T细胞 分泌PD-1抗体的CAR-T细胞
细胞因子释放综合征 和神经毒性 脱靶效应	IL-6、IL-10	托珠单抗联合CAR-T细胞 使用类固醇激素 SUPRA CAR-T细胞 synNotch-CAR-T细胞
体内持久性		自分泌IL-12、IL-15、IL-18等细胞因子的CAR-T细胞

RIAD: Regulatory subunit I anchoring disruptor; IDO: Indolamine-2,3 dioxygenase; ALTRA: All-trans retinoic acid

2 CAR修饰的NK细胞

NK细胞是固有免疫细胞,作为第一道防线保护机体免于病原侵袭和恶性转化。NK细胞分布于外周各淋巴器官和血液循环系统,约占人外周血淋巴细胞的10%~15%。与T、B细胞不同的是,NK细胞无需抗原的预先刺激与活化即可直接杀伤被病毒感染的细胞或者肿瘤细胞^[15-17]。NK细胞可以通过多种机制介导细胞毒活性,首先,通过NK细胞表面的FcγRIII(CD16)与抗体Fc段结合,介导ADCC效应。NK细胞还可以通过表达FasL和TRAIL等诱导靶细胞凋亡,而激活的NK细胞可通过产生IFN-γ进一步激活DC和巨噬细胞,对适应性免疫应答具有协同增效作用。当NK细胞与靶细胞形成免疫突触时,会释放预先形成的含有穿孔素和颗粒酶的溶细胞颗粒,导致靶细胞裂解^[18-19]。NK细胞以MHC非依赖的方式识别抗原,引起较弱的移植物抗宿主反应和细胞因子风暴等不良反应。另外,NK细胞来源广泛,可以把诱导多

能干细胞(induced pluripotent stem cell,iPSC)、外周血、脐带血、人胚胎干细胞(human embryonic stem cell,hESC)等作为制备CAR-NK细胞的来源。基于以上优点,NK细胞已经作为同种异体产品用于临床治疗,亦可成为非常有前景的CAR修饰免疫细胞来用于肿瘤免疫治疗^[10,20-23]。

加州大学KAUFMAN教授等^[24]通过诱导多能干细胞分化获得NK细胞,构建了包含不同共刺激结构域的靶向间皮素(mesothelin,MSLN)的一系列CAR-NK细胞,通过比较发现,穿膜段为NKG2D、胞内段共刺激域为2B4/CD3ζ的CAR-NK细胞CD107a表达最高、抗肿瘤活性最强。CAR-NK细胞比CAR-T细胞表现出更突出的细胞毒活性,相比CAR-T细胞能明显提高荷瘤小鼠生存期。接受CAR-T细胞治疗的小鼠体内IL-6、TNF-α等引起细胞因子风暴和神经毒性不良反应的细胞因子都出现了不同程度的上升,在第20天的时候达到了一个非常高的水平;而CAR-NK细胞治疗组未出现炎症因子升高和细

胞因子风暴现象。HERRERA 及其同事们^[25]分别从外周淋巴细胞和脐带血来源获得NK细胞,构建靶向CD19的CAR-NK细胞,两种来源的CAR-NK细胞都能有效地杀伤CD19⁺的Nalm-6细胞;两者相比,外周血来源的CAR-NK细胞杀伤能力优于脐带血来源的CAR-NK细胞,但是脐带血来源的CAR-NK细胞更容易刺激、细胞数量更稳定。NK-92细胞是NK细胞系之一,高表达穿孔素和颗粒酶B等杀伤相关分子,是一株IL-2依赖的永生细胞系,已经被美国FDA批准用于临床治疗肿瘤。相对于NK细胞存在体外扩增培养难和不易转染等缺点,NK-92细胞在体外容易扩增、易转染等优点使之能够替代NK细胞用于临床前研究^[26],在包括血液系统肿瘤(靶向CD19、CD20、CD138和CS-1)和实体瘤(靶向HER2、GD2、EGFR和EGFRvIII等)^[25,27-29]的治疗中均取得一定进展,为后期CAR-NK细胞用于临床治疗研究提供了相关数据。GANG等^[30]通过细胞因子诱导外周血来源的NK细胞分化成记忆样NK细胞(memory-like NK cell),构建靶向CD19的CAR-memory-like-NK细胞可以有效杀伤对NK细胞抵抗的淋巴瘤细胞系Raji细胞;来自患者NK细胞构建的CAR-memory-like-NK细胞可以降低患者淋巴瘤异种移植小鼠肿瘤负荷,提高小鼠存活率。

目前有多项临床试验研究CAR-NK细胞对肿瘤的治疗效果^[31],主要通过靶向CD19和CD22来治疗血液系统肿瘤,靶向MSLN、前列腺特异性膜抗原(prostate-

specific membrane antigen,PSMA)、环形制导受体1(roundabout guidance receptor 1,ROBO1)等靶点来治疗卵巢癌、前列腺癌和胰腺癌等实体瘤,并取得了初步效果(表3)。近期一项临床试验通过双靶向NKG2D/ACE2来治疗新冠肺炎(表3)。新英格兰医学杂志刊文总结了来源于脐带血的靶向CD19的CAR-NK细胞的临床治疗效果,发现CAR-NK细胞输注后不会引起细胞因子释放综合征、神经毒性或移植物抗宿主反应,炎症细胞因子水平IL-6无显著增加。11例接受治疗的患者中,8例(73%)出现治疗响应,其中7例出现完全缓解、1例出现Richter转化,而且CAR-NK细胞输注后的扩增和持续表达至少维持了12个月,证明CAR-NK细胞临床治疗是安全的、可靠的^[27]。

目前,CAR-NK细胞疗法的应用也面临一些挑战。首先,体外扩增原代NK细胞是CAR-NK细胞治疗的主要挑战,单个捐赠者的NK细胞量不足用于治疗,因此NK细胞的扩增和活化非常重要。其次,选择合适的方法将CAR转入NK细胞也很重要。转导方法主要为病毒载体和非病毒载体,其中病毒载体能稳定地将CAR整合到基因组中,因此被广泛应用于CAR-NK细胞的转导载体;逆转录病毒载体转导效率较高,但是它可能引起插入突变、致癌等不良事件;慢病毒载体引起插入突变概率较低,但对于外周血来源的NK细胞转导率低于20%。这些因素都制约着CAR-NK细胞的临床应用^[26,32]。

表3 CAR-NK细胞的临床试验

靶点	疾病	NK细胞来源	临床分期	临床试验ID
CD19	难治性B细胞淋巴瘤	外周血	II	NCT03690310
CD19	淋巴细胞白血病	外周血	I/II	NCT02944162
CD19	成淋巴细胞性白血病	外周血	I	NCT00995137
CD19	复发性弥漫性大B细胞淋巴瘤白血病	脐带血	I/II	NCT03579927
CD19	急性淋巴白血病	脐带血	I	NCT03056339
CD19/CD22	难治性B细胞淋巴瘤	外周血	I	NCT03824964
CD22	B细胞淋巴瘤	外周血	I	NCT03692767
CD7	白血病,淋巴瘤	NK-92	I/II	NCT02742727
CD33	急性髓性白血病	NK-92	I/II	NCT02944162
MUC1	MUC1 ⁺ 实体瘤	NK-92	I/II	NCT02839954
ROBO1	胰腺癌	NK-92	I/II	NCT03941457
HER2	恶性胶质瘤	NK-92	I	NCT03383978
BCMA	多发性骨髓瘤	NK-92	I/II	NCT03940833
ROBO1	实体瘤	NK-92	I/II	NCT03940820
MSLN	卵巢癌	外周血	I	NCT03692637
PSMA	前列腺癌	外周血	I	NCT03692663
NKG2DL	转移性实体瘤	外周血	I	NCT03415100
PD-L1	非小细胞肺癌	NK-92	I	NCT03656705
PD-L1	多种实体瘤	NK-92	I	NCT04050709
PD-L1	复发或转移性胃癌、头颈癌	NK-92	I	NCT04847466
NKG2D/ACE2	COVID-19	脐带血	I/II	NCT04324996

3 CAR修饰的NKT细胞

NKT细胞是一群既表达T细胞受体TCR又表达NK细胞受体的特殊T细胞亚群,通常被认为来源于胸腺,分布于肝脏、外周淋巴器官和外周血中^[33-35]。NKT细胞是调节固有免疫和适应性免疫的重要免疫调节细胞,主要识别由CD1d分子提呈的一些内源性或外源性糖脂类抗原,NKT细胞可分泌多种调节细胞因子(IFN- γ 、IL-4、IL-10、IL-13、IL-17、GM-CSF和TNF- α 等),既可激活DC等抗原提呈细胞,也可激活CD8⁺T细胞和NK细胞。临床资料^[36]已表明,NKT细胞肿瘤浸润率高的患者预后较好,其在抗感染、抗肿瘤、调节自身免疫性疾病和炎症性疾病中发挥重要作用,成为连接固有性免疫与适应性免疫系统的桥梁。另外,CD1d限制NKT细胞抗原识别的特性能够降低潜在的脱靶毒性,提高其在自体 and 异体治疗中的适用性,进一步增加了其作为免疫治疗剂的价值^[37]。鉴于NKT细胞在免疫应答中的重要作用,CAR修饰的NKT细胞可以作为取代CAR-T的候选细胞之一。由于外周血中NKT细胞较少,一般从PBMC中分离NKT细胞在体外大量扩增后再进行CAR结构修饰成CAR-NKT细胞。HECZEY团队^[38]从PBMC中分离出NKT细胞,构建靶向神经节苷脂(GD2)的CAR-NKT细胞(CAR.GD2 NKT),不仅能够有效地杀伤GD2⁺成神经细胞瘤CHLA-255,而且可以识别CD1d⁺的M2型巨噬细胞。有趣的是,当CAR.GD2 NKT细胞内共刺激域为4-1BB或4-1BB/CD28时,NKT细胞具有向Th-1极化的趋势,NKT细胞分泌GM-CSF的水平明显提高,而IL-4和IL-10的分泌水平明显下降。在体内动物模型中,CAR-NKT细胞能够定位于肿瘤部位,而且在发挥抗肿瘤过程中不会引起移植物抗宿主反应。ROTOLO等^[39]研究证明靶向CD19的CAR-NKT细胞与CAR-T细胞相比,在体内外均表现出对CD19⁺淋巴瘤更好的抑制作用;在体内,CAR-NKT细胞活化得更快,消除脑淋巴瘤的能力更强,提高了小鼠生存期。靶向硫酸软骨素蛋白聚糖4(chondroitin sulfate proteoglycan 4,CSPG4)的CAR-NKT细胞在体外可以有效地杀伤CSPG4⁺的黑色素瘤A375M细胞,而且,CAR分子不会影响NKT细胞识别CD1d提呈的抗原^[36]。目前,有2项I期临床试验正在进行中,但是结果尚未公布。第一项研究探索了自体CAR-NKT细胞在神经母细胞瘤患者中的疗效和体内持久性(NCT03294954);第二项研究供体来源的靶向CD19的CAR-NKT(含有CD28作为共刺激域和IL-15来提高体内持久性)细胞是否能治疗CD19⁺淋巴瘤(NCT03774654)。NKT细胞在体内比例较少,从外周血中大量扩增需要相当长时间;而NKT细胞在临床治

疗最大的挑战就是体内半衰期较短,影响了CAR-NKT细胞的临床应用^[37](表4)。

4 CAR修饰的 $\gamma\delta$ T细胞

$\gamma\delta$ T细胞占外周血T细胞的1%~9%,与 $\alpha\beta$ T细胞不同的是, $\gamma\delta$ T细胞以MHC非依赖的方式直接识别和杀伤肿瘤细胞。活化的 $\gamma\delta$ T细胞通过分泌各种细胞因子进一步促进T细胞和B细胞活化。因此, $\gamma\delta$ T细胞被认为是固有性免疫和适应性免疫之间的桥梁,发挥免疫防御和对感染、肿瘤发生的免疫监视作用^[40-42],已成为进行CAR修饰的一个极具吸引力的候选免疫效应细胞。RISCHER团队^[43]通过CD3/CD28抗体和唑来膦酸(zoledronic acid,ZOL)扩增外周血中 $\gamma\delta$ T细胞,分离出表型为V γ 9V δ 2的 $\gamma\delta$ T细胞,通过基因修饰成靶向GD2的第一代CAR- $\gamma\delta$ T细胞用来治疗神经母细胞瘤和尤文肉瘤。当CAR- $\gamma\delta$ T细胞和GD2⁺的成神经细胞瘤细胞系LAN-1共孵育后,分泌IFN- γ 的细胞比例明显提高,能够更加有效地杀伤肿瘤细胞。DENIGER等^[44]研究结果同样验证了CAR修饰的 $\gamma\delta$ T细胞具有良好的抗肿瘤效果,他们构建的靶向CD19的第二代V γ 9V δ 2 CAR- $\gamma\delta$ T细胞(CD19RC28)在杀伤CD19⁺肿瘤细胞系的同时可以分泌促炎细胞因子(IFN γ 、TNF- α 、MIP-1 α 和MIP-1 β 等),且在体内实验中CAR- $\gamma\delta$ T细胞能明显抑制肿瘤的生长。另一项研究^[45]更进一步证明了与传统的CAR-T细胞相比CAR- $\gamma\delta$ T细胞具有更强的杀伤作用,而且CAR- $\gamma\delta$ T细胞具有向肿瘤细胞迁移的能力及抗原交叉提呈的能力。有研究人员从PBMC中扩增细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cell,CIK)和V γ 9V δ 2 T细胞,被称为CIKZ细胞。CAR-CIKZ细胞对CD19⁺的B细胞白血病细胞系Raji、SUP-B15和Reh的杀伤效果都高于CAR- $\alpha\beta$ T细胞;第二代CAR修饰的靶向人癌胚抗原(CEA/CD28z)和靶向人表皮生长因子受体2(HER2/CD28z)的CAR-CIKZ的杀伤效果都好于CAR- $\alpha\beta$ T细胞^[46]。临床试验中通过靶向CD19的CAR- $\gamma\delta$ T细胞用于治疗淋巴瘤和白血病(NCT02656147),靶向NKG2D配体的CAR- $\gamma\delta$ T细胞用于治疗复发或难治性实体瘤(NCT04107142),上述两项研究均处于临床I期阶段,治疗效果暂未公布。

尽管 $\gamma\delta$ T细胞在肿瘤患者中耐受性较好,但是V γ 9V δ 2T细胞在临床试验中反应性较差。另外,有报道^[47]称,在肿瘤微环境中聚集了大量的抑制性免疫细胞,这些细胞产生的免疫抑制细胞因子可诱导 $\gamma\delta$ T细胞极化成 $\gamma\delta$ T17细胞, $\gamma\delta$ T17细胞在胆囊癌、卵巢癌等癌症中可通过促进血管生成来支持肿瘤进展;另外 $\gamma\delta$ T17分泌的IL-17在肿瘤中发挥免疫抑制作用而

且其通过表达PD-L1配体、IL-4细胞因子等方式,也会使 $\alpha\beta$ T细胞的活化受到抑制(表4)。

5 CAR修饰的巨噬细胞

巨噬细胞为吞噬细胞,源自单核细胞,属于固有免疫细胞。巨噬细胞具有吞噬杀菌、释放炎症介质、提呈抗原和启动适应性免疫应答的功能。实体瘤的免疫抑制微环境抑制了T细胞的存活和限制了CAR-T细胞的应用,巨噬细胞可以通过肿瘤衍生的趋化因子主动募集到肿瘤微环境中,并在肿瘤微环境中长时间生存^[48-49]。巨噬细胞还能够分泌MMP,从而破坏肿瘤细胞外基质层进入到肿瘤组织中发挥作用^[50]。考虑到巨噬细胞这些吸引人的特征,研究人员尝试从血液中分离出巨噬细胞后构建CAR-巨噬细胞进行免疫治疗(表4)。KLICHINSKY团队^[51]构建了靶向HER-2的CAR-巨噬细胞,在两种实体瘤异种移植的小鼠模型中,CAR-巨噬细胞可以减轻肿瘤负荷、延长小鼠生存期;同时,CAR-巨噬细胞可以表达促炎细胞因子和趋化因子,将附近M2型巨噬细胞转化为M1型,加强抗原提呈作用,募集抗原并向T细胞提呈。另一个团队^[50]在构建靶向HER-2的CAR-巨噬细胞的同时,采用CD147胞内信号来增强MMP的表达,与对照组相比,

CAR-巨噬细胞能够抑制小鼠肿瘤的生长,CAR-巨噬细胞分泌的MMP可以减少肿瘤胶原沉积、促进T细胞浸润,而且小鼠体内TNF- α 和IL-6明显低于对照组。

6 CAR修饰的其他免疫细胞

T细胞、NK细胞、NKT细胞、 $\gamma\delta$ T细胞和巨噬细胞在免疫治疗中的优秀表现引起了广泛研究的同时,研究人员还针对其他免疫细胞的特点进行CAR修饰后用于免疫治疗。造血干细胞(hematopoietic stem cell,HSC)具有自我更新能力并能分化为各种血细胞前体细胞,在体内修饰的HSC可以长期、稳定、持续地产生转基因细胞^[52]。ZHEN团队^[53]构建了靶向CD4 ζ 的CAR-HSC细胞,其可以抵抗HIV感染和抑制HIV复制,在血液、脾脏、胸腺和骨髓中都能检测到CAR-HSC细胞。另一项靶向CD19的CAR-HSC细胞研究发现,CAR-HSC可以分化成其他免疫细胞产生持久的免疫效应^[54]。记忆性T细胞(memory T cell)是一群抗异体反应较低的T细胞亚群,特异性表达CD45RA⁻,不会引起移植物抗宿主反应。FERNÁNDEZ等^[55-56]构建表达NKG2D的CAR-记忆性T细胞,在体内和体外均可以靶向清除表达NKG2DL的骨肉瘤细胞,可能是一种很有前途的骨肉瘤的免疫治疗方法(表4)。

表4 CAR修饰的各种免疫细胞的特点

细胞类型	优点	缺点	研发现状
NK细胞	具有广谱的抗肿瘤功能、引起较弱的细胞因子风暴和神经毒性	转染效率低、不易体外培养扩增	为除T细胞以外研究最多、最广泛的免疫细胞,是最有希望进入临床的CAR产品
NKT细胞	脱靶率低、肿瘤浸润率高的患者预后较好	细胞在体内含量较少,体外扩增需要相当长时间,体内持久性差	多家公司布局CAR-NKT细胞治疗,多项临床研究正在进行中
$\gamma\delta$ T细胞	具有向肿瘤组织内部迁移和抗原交叉提呈的能力	临床试验中反应性差、体内含量少,需大量扩增	一项临床试验、多项临床前研究正在进行中
巨噬细胞	吞噬杀菌、释放炎症介质、提呈抗原和启动适应性免疫应答,有良好的抗实体瘤效果	慢病毒和逆转录病毒载体转染效率低	临床前实验取得良好效果,独特的杀伤肿瘤机制使之成为实体瘤免疫治疗的新希望
HSC	自我更新能力强并能分化为各种免疫细胞	细胞因子风暴、神经毒性等不良反应尚不确定	目前处于临床前研究,靶点较少,需要进一步研究其临床应用的可行性
Treg细胞	不会引起移植物抗宿主反应	体外扩增难,体内持久性及细胞因子风暴、神经毒性等不良反应不清楚	多家公司致力于研发CAR-Treg用于减轻器官移植的不良反应
记忆性T细胞	不会引起移植物抗宿主反应	体外扩增难	目前处于临床前研究,需要进一步研究其临床应用的可行性

Treg细胞是一种能抑制传统T细胞和其他免疫细胞功能的T细胞亚群,Treg细胞既能预防急性和慢性移植物抗宿主病,又没有细胞毒性和其他不良反

应^[57]。针对Treg细胞的免疫抑制特性,目前已开发CAR-Treg细胞疗法治疗移植排斥以及一系列自身免疫性疾病^[58]。ZHANG团队^[57]构建了靶向胰腺表达的

H-2Dd 抗原的 CAR-Treg 细胞, 生物发光成像实验显示 CAR-Treg 细胞向移植的胰腺募集并大量扩增, 能够显著延长移植胰腺小鼠的生存期。目前 CAR-Treg 细胞已经成为自身免疫疾病、抗炎和耐受性治疗研究的热点^[59-61](表 4)。

7 结 语

CAR-T 细胞在治疗某些血液恶性肿瘤方面取得了令人印象深刻的成功, 但是其对实体瘤的治疗效果欠佳, 同时在治疗过程中伴随着严重的不良反应。在提高 CAR-T 细胞治疗的安全性以及对实体瘤治疗效果的过程中, 研究人员尝试使用 CAR 修饰其他免疫细胞来替代 T 细胞, 从而提高了对实体瘤的治疗效果, 同时降低了治疗过程中的不良反应。

在 CAR 修饰各种免疫细胞研究中, NK 细胞是目前除 T 细胞以外研究最多、最广泛的免疫细胞, NK 细胞本身具有强大的杀伤能力, 同时只会引起较轻的细胞因子风暴和神经毒性不良反应。但是, NK 细胞本身不易转染限制了 CAR-NK 细胞的应用。目前有多项临床试验研究 CAR-NK 细胞对肿瘤的治疗效果, 并取得了一定进展, CAR-NK 细胞是继 CAR-T 细胞之后最有希望进入临床的 CAR 系列产品之一。NKT 细胞在肿瘤治疗中表现出肿瘤浸润强、良好的预后等特点, 所以 CAR-NKT 细胞疗法具有治疗实体瘤潜力, 但是需要解决 NKT 细胞体外大量扩增这一难点。 $\gamma\delta$ T 细胞是固有免疫系统的一部分, 相对于其他免疫细胞, 迄今为止尚未发现 $\gamma\delta$ T 细胞浸润相关的严重不良反应。但是 $\gamma\delta$ T 细胞体内含量极低, 体外扩增分离效率低将会影响 CAR- $\gamma\delta$ T 细胞的临床应用, 另外 $\gamma\delta$ T 细胞临床应用安全性需要进一步评价。目前已有家公司布局 CAR- $\gamma\delta$ T 细胞治疗产品的研发, 相信不久的将来会有更多的 CAR- $\gamma\delta$ T 细胞产品问世。巨噬细胞因能够穿透实体瘤障碍并主动吞噬恶性细胞, 使之在 CAR 细胞研发中备受关注, 将来 CAR-巨噬细胞可能成为实体瘤的克星。另外, HSC、记忆性 T 细胞、Treg 细胞作为潜在的 CAR 修饰细胞, 目前处于临床前研究阶段, 这些免疫细胞同样存在体外扩增难、体内持久性有限等缺陷, 需要后期研究去克服。总之, CAR 修饰的其他免疫细胞治疗研发具有广泛的应用前景, 但有很多问题需要解决才能用于临床治疗。

[参 考 文 献]

- [1] GRUPP S A, KALOS M, BARRETT D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(16): 1509-1518. DOI:10.1056/NEJMoa1215134.
- [2] MIKKILINENI L, KOCHENDERFER J N. CAR T cell therapies for patients with multiple myeloma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(2): 71-84. DOI: 10.1038/s41571-020-0427-6.
- [3] LARSON R C, MAUS M V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells[J/OL]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(3): e145-e161[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33483715>. DOI: 10.1038/s41568-020-00323-z.
- [4] MAJZNER R G, MACKALL C L. Clinical lessons learned from the first leg of the CAR T cell journey[J]. *Nat Med*, 2019, 25(9): 1341-1355. DOI: 10.1038/s41591-019-0564-6.
- [5] JACKSON H J, RAFIQ S, BRENTJENS R J. Driving CAR-T cells forward[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(6): 370-383. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.36.
- [6] SINGH A K, MCGUIRK J P. CAR T cells: continuation in a revolution of immunotherapy[J/OL]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(3): e168-e178[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32135120>. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30823-X.
- [7] TOKAREW N, OGONEK J, ENDRES S, et al. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells[J]. *Br J Cancer*, 2019, 120(1): 26-37. DOI: 10.1038/s41416-018-0325-1.
- [8] SHAH N N, FRY T J. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(6): 372-385. DOI: 10.1038/s41571-019-0184-6.
- [9] DEPIL S, DUCHATEAU P, GRUPP S A, et al. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3): 185-199. DOI: 10.1038/s41573-019-0051-2.
- [10] SCHUBERT M L, SCHMITT M, WANG L, et al. Side-effect management of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy[J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(1): 34-48. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.10.478.
- [11] ELSALLAB M, LEVINE B L, WAYNE A S, et al. CAR T-cell product performance in haematological malignancies before and after marketing authorisation[J/OL]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(2): e104-e116[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32007196>. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30729-6.
- [12] FESNAK A D, JUNE C H, LEVINE B L. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy[J/OL]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(9): 566-581. DOI: 10.1038/nrc.2016.97.
- [13] BONIFANT C L, JACKSON H J, BRENTJENS R J, et al. Toxicity and management in CAR T-cell therapy [J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3: 16011[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27626062>. DOI: 10.1038/mto.2016.11.
- [14] RAFIQ S, HACKETT C S, BRENTJENS R J. Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(3): 147-167. DOI: 10.1038/s41571-019-0297-y.
- [15] SHIMASAKI N, JAIN A, and CAMPANA D. NK cells for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3): 200-218. DOI: 10.1038/s41573-019-0052-1.
- [16] DAHER M, BASAR R, GOKDEMIR E, et al. Targeting a cytokine checkpoint enhances the fitness of armored cord blood CAR-NK cells [J]. *Blood*, 2021, 137(5): 624-636. DOI: 10.1182/blood.2020007748.
- [17] MYERS J A, MILLER J S. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy[J/OL]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(2): 85-100[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32934330>. DOI: 10.1038/s41571-020-0426-7.

- [18] MARTINET L, SMYTH M J. Balancing natural killer cell activation through paired receptors[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(4): 243-254. DOI: 10.1038/nri3799.
- [19] O'BRIEN K L, FINLAY D K. Immunometabolism and natural killer cell responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(5): 282-290. DOI: 10.1038/s41577-019-0139-2.
- [20] SIEGLER E L, ZHU Y, WANG P, et al. Off-the-shelf CAR-NK cells for cancer immunotherapy[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(2): 160-161. DOI: 10.1016/j.stem.2018.07.007.
- [21] DAHER M, REZVANI K. Next generation natural killer cells for cancer immunotherapy: the promise of genetic engineering[J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 51(4): 146-153. DOI: 10.1016/j.coi.2018.03.013.
- [22] REZVAN P, MILLER P H. Cancer immunotherapy: make way for CAR NK[J/OL]. *Cancer Discov*, 2020, 10(4): 484[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32086314>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-ND2020-004.
- [23] DAHER M, REZVANI K. Outlook for new CAR-based therapies with a focus on CAR NK cells: what lies beyond CAR-engineered T cells in the race against cancer[J/OL]. *Cancer Discov*, 2021, 11(1): 45-58[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33277313>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0556.
- [24] LI Y, HERMANSON D L, MORIARITY B S, et al. Human iPSC-derived natural killer cells engineered with chimeric antigen receptors enhance anti-tumor activity[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(2): 181-192. DOI: 10.1016/j.stem.2018.06.002.
- [25] HERRERA L, SANTOS S, VESGA M A, et al. Adult peripheral blood and umbilical cord blood NK cells are good sources for effective CAR therapy against CD19 positive leukemic cells[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18729-187235. DOI: 10.1038/s41598-019-55239-y.
- [26] HU Y, TIAN Z G, ZHANG C. Chimeric antigen receptor (CAR)-transduced natural killer cells in tumor immunotherapy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(2): 167-176. DOI: 10.1038/aps.2017.125.
- [27] LIU E, MARIN D, BANERJEE P, et al. Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(6): 545-553. DOI: 10.1056/NEJMoa1910607.
- [28] KARADIMITRIS A. Cord blood CAR-NK cells: favorable initial efficacy and toxicity but durability of clinical responses not yet clear[J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(4): 426-427. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.018.
- [29] TOPFER K, CARTELLIERI M, MICHEN S, et al. DAP12-based activating chimeric antigen receptor for NK cell tumor immunotherapy [J]. *J Immunol*, 2015, 194(7): 3201-3212. DOI: 10.4049/jimmunol.1400330.
- [30] GANG M, MARIN N D, WONG P, et al. CAR-modified memory-like NK cells exhibit potent responses to NK-resistant lymphomas[J]. *Blood*, 2020, 136(20): 2308-2318. DOI: 10.1182/blood.2020006619.
- [31] MACKAY M, AFSHINNEKOO E, RUB J, et al. The therapeutic landscape for cells engineered with chimeric antigen receptors[J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(2): 233-244. DOI: 10.1038/s41587-019-0329-2.
- [32] ROTOLO R, LEUCI V, DONINI C, et al. CAR-based strategies beyond T lymphocytes: integrative opportunities for cancer adoptive immunotherapy[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): e876-878[2021-04-25]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31212634>. DOI: 10.3390/ijms20112839.
- [33] PELLICCI D G, KOAY H F, and BERZINS S P. Thymic development of unconventional T cells: how NKT cells, MAIT cells and gammadelta T cells emerge[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(12): 756-770. DOI: 10.1038/s41577-020-0345-y.
- [34] GALVEZ N M S, BOHMWALD K, PACHECO G A, et al. Type I natural killer T cells as key regulators of the immune response to infectious diseases[J/OL]. *Clin Microbiol Rev*, 2021, 34(2): 255-257 [2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33361143>. DOI: 10.1128/CMR.00232-20.
- [35] PELLICCI D G, KOAY H F, BERZINS S P. Thymic development of unconventional T cells: how NKT cells, MAIT cells and gammadelta T cells emerge[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(12): 756-770. DOI: 10.1038/s41577-020-0345-y.
- [36] SIMON B, WIESINGER M, MARZ J, et al. The generation of CAR-transfected natural killer T cells for the immunotherapy of melanoma[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 563-564[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30103488>. DOI: 10.3390/ijms19082365.
- [37] PATEL S, BURGA R A, POWELL A B, et al. Beyond CAR T cells: other cell-based immunotherapeutic strategies against cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9(196): 765-778. DOI: 10.3389/fonc.2019.00196.
- [38] HECZEY A, LIU D, TIAN G, et al. Invariant NKT cells with chimeric antigen receptor provide a novel platform for safe and effective cancer immunotherapy[J]. *Blood*, 2014, 124(18): 2824-2833. DOI: 10.1182/blood-2013-11-541235.
- [39] ROTOLO A, CAPUTO V S, HOLUBOVA M, et al. Enhanced anti-lymphoma activity of CAR19-iNKT cells underpinned by dual CD19 and CD1d targeting[J/OL]. *Cancer Cell*, 2018, 34(4): 596-610. e11[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30300581>. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.08.017.
- [40] SILVA-SANTOS B, MENSURADO S, COFFELT S B. Gammadelta T cells: pleiotropic immune effectors with therapeutic potential in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(7): 392-404. DOI: 10.1038/s41568-019-0153-5.
- [41] SEBESTYEN Z, PRINZ I, DECHANET-MERVILLE J, et al. Translating gammadelta T cells and their receptors into cancer cell therapies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3): 169-184. DOI: 10.1038/s41573-019-0038-z.
- [42] LEE H W, CHUNG Y S, KIM T J. Heterogeneity of human gammadelta T cells and their role in cancer immunity[J/OL]. *Immune Netw*, 2020, 20(1): e5[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32158593>. DOI: 10.4110/in.2020.20.e5.
- [43] RISCHER M, PSCHERER S, DUWE S, et al. Human gammadelta T cells as mediators of chimeric-receptor redirected anti-tumour immunity[J]. *Br J Haematol*, 2004, 126(4): 583-592. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05077.x.
- [44] DENIGER D C, SWITZER K, MI T, et al. Bispecific T-cells expressing polyclonal repertoire of endogenous gammadelta T-cell receptors and introduced CD19-specific chimeric antigen receptor [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(3): 638-647. DOI: 10.1038/mt.2012.267.
- [45] CAPSOMIDIS A, BENTHALL G, VAN ACKER H H, et al. Chimeric antigen receptor-engineered human gammadelta T cells: enhanced cytotoxicity with retention of cross presentation[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(2): 354-365. DOI: 10.1016/j.yimthe.2017.12.001.
- [46] DU S H, LI Z, CHEN C, et al. Co-expansion of cytokine-induced killer cells and Vγ9Vδ2 T cells for CAR T cell therapy[J/OL]. *PLoS*

- One, 2016, 11(9): e0161820[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27598655>. DOI: 10.1371/journal.pone.0161820.
- [47] MIRZAEI H R, MIRZAEI H, LEE S Y, et al. Prospects for chimeric antigen receptor (CAR) gammadelta T cells: A potential game changer for adoptive T cell cancer immunotherapy[J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(2): 413-423. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.07.001.
- [48] WYNN T A, CHAWLA A, POLLARD J W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease[J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 445-455. DOI: 10.1038/nature12034.
- [49] VILLANUEVA M T. Macrophages get a CAR[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(5): 308. DOI: 10.1038/d41573-020-00053-9.
- [50] ZHANG W, LIU L, SU H, et al. Chimeric antigen receptor macrophage therapy for breast tumours mediated by targeting the tumour extracellular matrix[J]. *Br J Cancer*, 2019, 121(10): 837-845. DOI: 10.1038/s41416-019-0578-3.
- [51] KLICHINSKY M, RUELLA M, SHESTOVA O, et al. Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy [J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(8): 947-953[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32361713>. DOI: 10.1038/s41587-020-0462-y.
- [52] ZHEN A, CARRILLO M A, KITCHEN S G. Chimeric antigen receptor engineered stem cells: a novel HIV therapy[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(5): 401-410. DOI: 10.2217/imt-2016-0121.
- [53] ZHEN A, KAMATA M, REZEK V, et al. HIV-specific immunity derived from chimeric antigen receptor-engineered stem cells[J]. *Mol Ther*, 2015, 23(8): 1358-1367. DOI: 10.1038/mt.2015.102.
- [54] LARSON S M, TRUSCOTT L C, CHIOU T T, et al. Pre-clinical development of gene modification of haematopoietic stem cells with chimeric antigen receptors for cancer immunotherapy[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2017, 13(5): 1094-1104. DOI: 10.1080/21645515.2016.1268745.
- [55] FERNÁNDEZ L, METAIS J Y, ESCUDERO A, et al. Memory T cells expressing an NKG2D-CAR efficiently target osteosarcoma cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(19): 5824-5835. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0075.
- [56] FERNÁNDEZ L, FERNANDEZ A, MIRONES I, et al. GMP-compliant manufacturing of NKG2D CAR memory T cells using clini MACS prodigy[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2361[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31649672>. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02361.
- [57] ZHANG Q, LU W, LIANG C L, et al. Chimeric antigen receptor (CAR) Treg: a promising approach to inducing immunological tolerance [J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2359[2021-04-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30369931>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02359.
- [58] SICARD A, LAMARCHE C, SPECK M, et al. Donor-specific chimeric antigen receptor Tregs limit rejection in naive but not sensitized allograft recipients[J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(6): 1562-1573. DOI: 10.1111/ajt.15787.
- [59] PIERINI A, ILIOPOULOU B P, PEIRIS H, et al. T cells expressing chimeric antigen receptor promote immune tolerance[J/OL]. *JCI Insight*, 2017, 2(20): e66-e68[2021-04-25]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29046484>. DOI: 10.1172/jci.insight.92865.
- [60] NOYAN F, ZIMMERMANN K, HARDTKE-WOLENSKI M, et al. Prevention of allograft rejection by use of regulatory T cells with an MHC-specific chimeric antigen receptor[J]. *Am J Transplant*, 2017, 17(4): 917-930. DOI: 10.1111/ajt.14175.
- [61] KORISTKA S, KEGLER A, BERGMANN R, et al. Engrafting human regulatory T cells with a flexible modular chimeric antigen receptor technology[J]. *J Autoimmun*, 2018, 90(6): 116-131. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.02.006.

[收稿日期] 2021-05-20

[修回日期] 2021-06-05

[本文编辑] 沈志超