

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.04.012

· 综述 ·

免疫检查点分子联合 CAR-T 细胞治疗实体肿瘤研究进展

Research progress on combined treatment of immunotherapy of immune checkpoint molecules and CAR-T cells for solid tumors

冯琛^{ab} 综述; 蒋敬庭^{ab} 审阅(苏州大学 a. 附属第三医院 肿瘤生物诊疗中心; b. 细胞治疗研究院, 江苏 常州 213003)

[摘要] 免疫检查点分子是一组表达于免疫细胞表面, 主要调控免疫细胞稳态的分子。嵌合抗原受体修饰的 T 细胞(CAR-T)免疫疗法是通过生物技术构建表达特异性抗原的人工合成 T 细胞, 实现肿瘤靶向杀伤的免疫治疗技术。CAR-T 治疗策略已在血液肿瘤临床治疗中取得了较好的疗效, 但针对实体肿瘤的 CAR-T 免疫治疗技术有待进一步研究完善。本文就免疫检查点分子联用 CAR-T 免疫疗法在实体肿瘤治疗中面临的问题及新进展进行综述。

[关键词] 免疫检查点; 嵌合抗原受体的 T 细胞(CAR-T); 免疫疗法; 实体肿瘤

[中图分类号] R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)04-0349-05

嵌合抗原受体修饰的 T 细胞(CAR-T)免疫疗法是指通过生物工程技术方式, 以患者 T 细胞为基础, 构建包含靶向特异性靶点嵌合抗原受体(CAR)的 ScFv 片段, 而后两者组装, 完成人工构建 CAR-T 细胞。通过人工构建的 CAR-T 细胞精准靶向肿瘤细胞, T 细胞局限性释放 IL-6 等多种抑瘤细胞因子, 精准、高效治疗肿瘤的治疗方式。免疫检查点分子是一组存在于免疫细胞表面的调控分子, 在生理状态下, 免疫检查点分子承担着维持自身免疫系统耐受和维持免疫稳态的角色。常见的免疫检查点分子包括程序性死亡蛋白-1(programmed death-1, PD-1)、细胞毒性 T 淋巴细胞抗原-4(cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)等。血液系统肿瘤 CAR-T 治疗已取得了一定进展, 但针对实体肿瘤的 CAR-T 技术研究尚未完善。本文就免疫检查点分子联用 CAR-T 免疫疗法在实体肿瘤治疗研究中的新进展进行综述。

1 CAR-T 疗法在实体肿瘤治疗中的运用与挑战

CAR-T 常包括胞外特异性识别肿瘤抗原的单链可变片段 ScFv、T 细胞膜上识别区域和 T 细胞膜内的效应区。RAJ 等^[1]通过构建可转变的 ScFv 片段, 此 ScFv 片段特异性靶向胰腺导管癌的 HER-2 区域, 从而达到了提高靶向准确度, 减少 T 细胞“误杀”行为的目的。现阶段常用的 CAR-T 技术已经发展到第三代。三代 CAR-T 技术主要区别在人工构建的 CAR 刺激区域的不同。其中, 第一代 CAR 结构为最基础的 CAR 结构, 一般情况是指特异性识别的 ScFv 片段直接与 CD3 ζ 区域相结合。基于 CD3 ζ 的第一代 CAR 激活 T 细胞有可能是通过酪氨酸免疫受体活化基序(ITAM)调控的^[2]。第一代 CAR-T 技术构建的 T 细胞

活化程度不足, 相对持久性较差。第二代 CAR 构建方式是在第一代基础上加入了 T 细胞活化区域, 如 CD28 或 4-1BB(CD137)。有学者^[3]证实在急性淋巴瘤的肿瘤模型中, 通过构建靶向 CD19-CAR-T 细胞同时加入 CD28 共刺激区域构建的二代 CAR-T 细胞可有效加强 CAR-T 的抑瘤效果。与此同时, 也有学者^[4]通过在靶向前列腺特异性膜抗原的 CAR 中添加了 CD28 共刺激区域, 可有效重定向和放大抑瘤因子(IL-2)的释放效果。一项针对共刺激 CD28 与 4-1BB 的研究^[5]中指出, 相较于共刺激 CD28 的 CAR-T 构建策略, 选择共刺激 4-1BB 区域可相对有效提高 CAR-T 细胞的体内持久性, 且这种对 T 细胞的“升级”有可能是通过调节 NF- κ B 实现的。第三代 CAR-T 技术是指在构建 CAR-T 细胞时加入 CD28 和 4-1BB 共刺激区域。理想状态下, 通过共刺激 CD28 和 4-1BB 区域可同时提高改造 T 细胞的效率和持久性。在治疗霍奇金淋巴瘤临床试验^[6]中证实, 相较于第二代 CAR-T 细胞, 新构建策略的第三代 CAR-T 细胞表现出更好的持久性和抗肿瘤活性。此外, 有学者^[7]提出, 通过共刺激 CD28 和 4-1BB 区域, 可有效提高 CAR-T 细胞的增殖能力, 并通过胰腺癌异位成瘤的 CAR-T 研究显示, 第二代 CAR-T 相较于第三代 CAR-T 表现出更好的诱导抗肿瘤因子的特性。为了探究诱

[基金项目] 国家重点研发项目资助(No.2018YFC1313400); 国家自然科学基金海外及港澳学者合作研究基金资助项目(No.31729001); 国家自然科学基金资助项目(No.81972869); 江苏省重点研发计划专项基金资助项目(No.BE2018645)

[作者简介] 冯琛(1990—), 男, 博士研究生, 主要从事肿瘤免疫治疗的研究, E-mail: fengchen001122@163.com

[通信作者] 蒋敬庭, E-mail: jiangjingting@suda.edu.cn

导差异的原因,有学者^[8]通过质谱分析的方法探究出相较于第三代CAR-T细胞,仅共刺激CD28的第二代CAR-T细胞有更好的诱导特性,此现象有可能是与激活的磷酸化CD3 ζ 有关。

迄今为止,CAR-T疗法在血液系统恶性肿瘤治疗策略的研究中已展现了极好的运用价值。如以患者自身CD4⁺T和CD8⁺T细胞为基础,构建靶向CD19的CAR的ScFv片段,靶向组装完成的CD9-CAR-T细胞已被用于B细胞来源的急性淋巴细胞白血病的临床试验中,并采用流式细胞术检测结果显示,通过CAR-T的治疗可使90%的患者达到缓解状态^[9]。因此,在实体肿瘤治疗领域,CAR-T技术存在研究潜力。

这种治疗效果的差异可能与实体肿瘤的独特特征有关。与血液系统肿瘤相比,实体肿瘤多表现为实体肿瘤细胞靶点多呈现出多样性、实体肿瘤的T细胞浸润程度较弱及微环境多表现抑制T细胞行为等特征^[10]。首先,相较于血液系统肿瘤高表达CD19的特征不同,实体肿瘤常因组织来源不同等多种原因表现为高度的抗原异质性。现阶段实体肿瘤CAR-T靶点的选择策略通常是寻找特异性肿瘤相关抗原(TAA)。例如,黏蛋白1(mucin-1, MUC1/CD277)作为TAA已经使用在实体肿瘤CAR-T上。有课题组^[11]使用HMFG2-ScFv构建第一代和第二代MUC1特异性CAR-T细胞,且为了确保CAR-T细胞在实体肿瘤微环境中的稳定表达及增殖,该课题组共表达连接IL-7的IL-4受体区域的反向细胞因子受体(inverted cytokine receptor, ICR)。体内外实验证实,在IL-4/-7 ICR共表达的情况下,第二代CAR-T相较于第一代CAR-T技术表现出对肿瘤的有效抑制性,且针对肿瘤微环境这种肿瘤抑制性表现更为优秀。在头颈部肿瘤的治疗研究中,靶向MUC1的CAR-T细胞可以赋予肿瘤特异性免疫力,且在外源性添加IL-22重组蛋白时,可有效增强CAR-T细胞功能^[12]。与此同时,MUC1亦可作为胰腺癌^[13]、非小细胞肺癌^[14]、前列腺癌^[15]CAR-T治疗的靶点。其次,在实体肿瘤环境中,嵌合抗原改造后的T细胞肿瘤浸润效果及归巢效果较差。在血液系统中,CAR-T细胞与肿瘤细胞共处于同一物理环境中,相对来说,不存在T细胞浸润和归巢困难的问题。但当处于实体肿瘤微环境时,趋化因子轴不匹配和高内皮小静脉(HEV)幼稚化^[16]有可能是影响效应T细胞肿瘤归巢的因素。人生长调节癌基因- α (growth-regulated oncogene- α , CXCL1/Gro- α)在多种肿瘤细胞上均有分泌。有学者^[17]把CXCL1作为目标趋化因子,通过使用编码CXCL1受体的慢病毒转染T细胞,证实此基因可加

强T细胞分泌IFN- γ ,更重要的是此基因可通过整合趋化因子轴的方式从而有效加强T细胞归巢的效果。最后,不同于血液恶性肿瘤微环境,实体肿瘤的微环境常表现为低氧、低糖的状态^[18]。肿瘤微环境的低糖状态有可能会影响效应T细胞的活性,且阻断PD-1可抑制葡萄糖代谢相关的雷帕霉素靶蛋白(mTOR)活性达到降低糖酵解酶表达的作用^[19]。

2 免疫检查点PD-1联用CAR-T技术

程序性死亡分子-1(PD-1,CD279)与其配体PD-L1(B7-H1,CD274)相结合后,激活可导致T细胞的衰减和功能障碍^[20]。在肿瘤的发生及进展过程中,肿瘤细胞可表达PD-L1。肿瘤细胞可利用该免疫检查点的负调节机制,靶向结合效应T细胞表面的PD-1抑制T细胞,达到免疫逃逸的效果^[21]。近年来,众多学者期望通过多种抑制剂靶向抑制PD-1及PD-L1分子,从而达到抑制肿瘤免疫逃逸。多个研究^[22-25]证实,通过阻断PD-1/PD-L1轴能够在一定程度上达到抑制肿瘤细胞免疫逃逸及恢复T细胞的肿瘤杀伤功能的目的。但是由于免疫调节的复杂性及恶性肿瘤的异质性,免疫检查点抑制剂单药抑制肿瘤的效果欠佳。PD-1/PD-L1抑制剂的临床试验^[26]分析显示,接受PD-1/PD-L1抑制剂治疗的患者中,60%以上患者出现不良反应,因此,研究联用CAR-T技术在内的多药物联合治疗策略具有重要意义。

PD-1调控联合CAR-T的研究策略主要针对构建单独靶向或联合靶向PD-1的CAR-T细胞;构建小范围分泌PD-1抑制剂的CAR-T细胞和靶向PD-1,间接性增强CAR-T与肿瘤的结合程度及增强T细胞的细胞毒性。

2.1 构建单独靶向或联合靶向PD-1的CAR-T

LIU等^[27]学者构建了靶向PD-L1的CAR-T细胞,在异位成瘤的裸鼠中证实靶向PD-L1的CAR-T细胞可“根除”PD-L1高表达的非小细胞肺癌;该课题组进一步通过局部照射和抗PD-L1-CAR-T细胞联用的方式证实此联用可减弱低表达PD-L1的非小细胞肺癌细胞的生长。YANG等^[28]通过慢病毒载体构建PD-L1-CAR-T细胞靶向PD-1,在胰腺导管腺癌异位模型的体内、体外实验中都表现了很好的抑制肿瘤效果,且此抑制效果有可能是通过基因修饰后T细胞高表达炎症因子实现的。除单独靶向CAR-T外,PD-1联合靶点CAR-T构建同样引起关注。针对胃癌的研究中,通过构建靶向Trop2和PD-L1的CAR-T^[29]和靶向c-Met和PD-1双靶点CAR-T细胞^[30]在体内及体外实验中都表现出良好的抗肿瘤活性,且抗肿瘤活性有可能与效应T细胞释放IFN- γ 与IL-2有关。

2.2 构建表达 PD-1 抑制剂的 CAR-T 细胞小范围分泌 PD-1 抑制剂精准靶向肿瘤细胞

抗 PD-1/PD-L1 治疗依旧是研究相对完全、临床试验相对完整的免疫检查点治疗方案。但除霍奇金淋巴瘤和黑色素瘤外,在绝大多数晚期癌症患者的治疗中,单一使用抗 PD-1/PD-L1 药物时,患者的缓解率仅约为 20%,且约 66% 的患者出现一项或一项以上的不良反应^[26,31]。有课题组^[32]通过构建识别 CD19 或 MUC16 及小鼠 CD28 的双识别 CAR-T 并工程化改造 ScFv 片段,使已改造 CAR-T 细胞特异性结合癌细胞后通过旁分泌及自分泌两种方式小范围分泌 PD-1 抑制剂;通过体内实验证实,人工制备的 CAR-T 细胞表现出很好的肿瘤抑制特性,且与全身的免疫检查点治疗相比较,CAR-T 细胞分泌的 ScFv 局限在局部的肿瘤微环境中,这种局部的 ScFv 表达有可能在一定程度上降低了不良事件的发生概率。

2.3 通过靶向 PD-1 增强 CAR-T 与肿瘤的结合程度及增强 T 细胞的细胞毒性

有课题组^[33]通过神经母细胞瘤的临床试验比较了 3 种联用方案:单独使用第三代 CAR-T、第三代 CAR-T 联用环磷酰胺和氟达拉滨(Cy/Flu)、第三代 CAR-T 联用环磷酰胺和氟达拉滨(Cy/Flu)及 PD-1 抗体,试验结果发现,采用第三代 CAR-T 与化疗药物和抗 PD-1 三者联用方案表现出更好的 T 细胞功能持续性及抗肿瘤抑制性,试验结果证实,PD-1 抗体联用可能在一定程度上强化了肿瘤治疗的效果。

有实验^[34]证实,在前列腺癌的异位小鼠模型中,通过联合 CAR-T 和抗 PD-1 单克隆抗体,可以有效增强 CAR-T 细胞的靶向性及持久性。这种增强效果有可能与逆转处于小鼠肿瘤结节中心的 CD3⁺T 细胞功能限制有关。针对抗 PD-1 加强 CAR-T 细胞功能的机制,CHERKASSKY 等^[35]通过在胸膜间皮瘤小鼠模型中联用 CAR-T 与 PD-1 阻断剂实验证实,PD-1 阻断剂的确可有效提高 CAR-T 细胞的作用效果且这种加强有可能与恢复 CD28-CAR-T 细胞的作用有关。

RUPP 等^[36]为阻断因 PD-1 表达而引起的 CAR-T 细胞功能低下,使用结合 Cas9 核糖核蛋白(Cas9 RNP)介导的低表达 PD-1 的 CAR-T 构建方案,且证实新构建的 CAR-T 细胞表现出更高的肿瘤杀伤力。在一项针对肝细胞癌的研究中^[37]证实,相较于野生型 CAR-T 细胞,CRISPR/Cas9 技术构建的 PD-1 缺失的 CAR-T 细胞表现出更强的抗肿瘤活性,且 CD4⁺、CD8⁺T 细胞亚群和 CAR-T 细胞的激活状态更加稳定。在三阴性乳腺癌体外实验研究^[38]中发现,同样通过 CRISPR/Cas9 技术构建的 PD-1 缺失的 CAR-T 细

胞,相较于野生型 CAR-T 细胞,也表现出更强的抗肿瘤活性,但与此同时对于 CAR-T 细胞的增殖几乎没有影响。

虽然 CRISPR/Cas9 技术被使用在构建 PD-1 缺失的 CAR-T 细胞中,但是 CRISPR/Cas9 技术可能引起错义突变,加剧 T 细胞功能障碍。SHI 等^[39]通过单碱基 ABE 编辑器技术构建 PD-1 糖基残基化 CAR-T 细胞,并证实通过 ABE 构建的 PD-1 糖基残基化 CAR-T 细胞在体内、外具有更强的抗肿瘤效果。WEI 等^[40]使用 shRNA 技术构建 PD-1 稳定阻断的 CAR-T 细胞,结果显示,在短期 PD-1 阻断的确可以增强 CAR-T 细胞肿瘤杀伤能力,但从长远看,PD-1 敲低会削弱 CAR-T 的增殖“潜力”,这种 PD-1 低表达有可能会影响 CAR-T 的治疗效果;该课题组认为,PD-1 的低表达有可能通过加速 T 细胞的早期分化并阻止 T 细胞分化为效应 T 细胞的方式抑制 T 细胞的增殖过程,并影响 CAR-T 的治疗效果。

3 CTLA-4 调控联合 CAR-T 技术在实体肿瘤治疗策略中的研究

T 细胞的活化需要“激活”及“抑制”相配合的调控。T 细胞的抑制主要是通过免疫检查点 PD-1 及 CTLA-4 的激活来实现。除 PD-1 外,CTLA-4 同样被认为是 T 细胞表面表达的抑制性免疫检查点之一。在 T 细胞的活化过程中,CTLA-4 通过与 CD80 和 CD86 结合的方式以抵消 T 细胞的 CD28 刺激性调节作用。近年来,有学者^[41]证实除 T 细胞外,NK 细胞表面有可能同样存在 CTLA-4,通过靶向 CTLA-4 抗体的形式靶向 NK 细胞,从而增强了 NK 细胞的抗肿瘤活性。

有研究^[42-43]发现,激活 T 细胞功能的调控点 CD28 可共享 CTLA-4 的配体 CD80 及 CD86。在 CAR-T 技术的发展进程中,CD28 的使用占有重要地位。相对于第一代 CAR-T 技术,第二代 CAR-T 技术是通过添加 CD28 刺激区域达到增强 T 细胞功能及持久性的效果。有实验证实,通过添加共刺激域 CD28 区域可有效增加 CAR-T 的抗肿瘤活性,但这种强效有可能伴随 CAR-T 耐久性降低。YIN 等^[44]证实,CTLA-4 阻断剂与白介素 13 受体 $\alpha 2$ (IL-13R $\alpha 2$) 及 CAR-T 联用可有效加强 CAR-T 的抗肿瘤效果。有课题组^[45]聚合 CAR 样纳米聚合物,将 CD28RNA 适体和 CTLA-4RNA 适体形成四聚体,再把其置于稳定的核酸三相支架中,结果显示,合成物可特异性识别 CD28 及 CTLA-4,同时通过小鼠黑色素瘤体内实验也证实该合成物可履行 CAR-T 的功能。

4 展 望

CAR-T 靶向治疗癌症因其高效性、靶向性和特异性而受到关注。此技术在血液系统恶性肿瘤的治疗中展现了精准的癌细胞靶向性及良好的治疗效果。与血液系统恶性肿瘤不同,实体肿瘤存在多样性的表面抗原,抗原的适应性及肿瘤组织微环境干扰等劣势。

在实体肿瘤治疗研究领域,CAR-T 技术的运用依旧面临巨大的挑战。生理状态下,免疫检查点分子通过负向调控免疫细胞的活性,达到负向监控免疫系统,抑制免疫系统过度激活的目的。但在肿瘤组织中,肿瘤细胞可通过靶向激活免疫检查点的方式来抑制免疫细胞发挥作用,抑制活性免疫细胞分泌抑制肿瘤细胞因子和趋化因子等,从而实现免疫逃逸。现阶段,通过使用免疫检查点单克隆抗体抑制肿瘤逃逸或将其与多种肿瘤治疗方式联用表现出良好的抑制肿瘤生长的效果。在实体瘤治疗领域,理想状态下,CAR-T 细胞在体内应准确进入实体瘤,且可有效地进行增殖、活化。在多数研究中,通过多种形式的免疫检查点调控,可增强 CAR-T 的功能。但现阶段,针对免疫检查点联用 CAR-T 治疗的研究尚存在不足,因此使用免疫检查点作为 CAR-T 的靶向位点有可能是新的研究方向。除免疫检查点分子调节 CAR-T 细胞功能的策略外,随着更多新型免疫检查点的发现,是否可用于 CAR-T 的构建或 T 细胞功能的加强尚需要进一步的验证。此外,加强 CAR-T 细胞对实体肿瘤浸润的策略亦尚需要进一步研究,寻找合适的免疫检查点调控、联用策略以及探寻准确、高效的肿瘤匹配 CAR-T 治疗方式在实体肿瘤治疗策略的研究中具有重要意义。

[参考文献]

- [1] RAJ D, YANG M H, RODGERS D, *et al.* Switchable CAR-T cells mediate remission in metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Gut*, 2019, 68(6): 1052-1064. DOI:10.1136/gutjnl-2018-316595.
- [2] BRIDGEMAN J S, LADELL K, SHEARD V E, *et al.* CD3 ζ -based chimeric antigen receptors mediate T cell activation *via* cis- and trans-signalling mechanisms: implications for optimization of receptor structure for adoptive cell therapy[J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 175 (2): 258-267. DOI:10.1111/cei.12216.
- [3] BRENTJENS R J, SANTOS E, NIKHAMIN Y, *et al.* Genetically targeted T cells eradicate systemic acute lymphoblastic leukemia xenografts[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(18Pt1): 5426-5435. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0674.
- [4] MAHER J, BRENTJENS R J, GUNSET G, *et al.* Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta/CD28 receptor[J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(1): 70-75. DOI:10.1038/nbt0102-70.
- [5] LI G B, BOUCHER J C, KOTANI H, *et al.* 4-1BB enhancement of CAR T function requires NF- κ B and TRAFs[J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(18): e121322[2021-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6237232/>. DOI:10.1172/jci.insight.121322.
- [6] RAMOS C A, ROUCE R, ROBERTSON C S, *et al.* *In vivo* fate and activity of second-versus third-generation CD19-specific CAR-T cells in B cell non-Hodgkin's lymphomas[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(12): 2727-2737. DOI:10.1016/j.ymthe.2018.09.009.
- [7] DRENT E, POELS R, RUITER R, *et al.* Combined CD28 and 4-1BB costimulation potentiates affinity-tuned chimeric antigen receptor-engineered T cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(3): 4014-4025. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-2559.
- [8] RAMELLO M C, BENZAÏD I, KUENZI B M, *et al.* An immunoproteomic approach to characterize the CAR interactome and signalosome[J/OL]. *Sci Signal*, 2019, 12(568): eaap9777[2021-11-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6506216/>. DOI:10.1126/scisignal.aap9777.
- [9] TURTLE C J, HANAFI L A, BERGER C, *et al.* CD19 CAR-T cells of defined CD4⁺:CD8⁺ composition in adult B cell ALL patients[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6): 2123-2138. DOI:10.1172/JCI85309.
- [10] MARTINEZ M, MOON E K. CAR T cells for solid tumors: new strategies for finding, infiltrating, and surviving in the tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 128-159. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00128.
- [11] BAJGAIN P, TAWINWUNG S, D'ELIA L, *et al.* CAR T cell therapy for breast cancer: harnessing the tumor milieu to drive T cell activation[J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 34-49. DOI: 10.1186/s40425-018-0347-5.
- [12] MEI Z, ZHANG K, LAM A K Y, *et al.* MUC1 as a target for CAR-T therapy in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(2): 640-652. DOI:10.1002/cam4.2733.
- [13] DESELM C J, TANO Z E, VARGHESE A M, *et al.* CAR T-cell therapy for pancreatic cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2017, 116(1): 63-74. DOI:10.1002/jso.24627.
- [14] WEI X R, LAI Y X, 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[2021-11-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5384358/>. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1284722.
- [15] SANCHEZ C, CHAN R, BAJGAIN P, *et al.* Combining T-cell immunotherapy and anti-androgen therapy for prostate cancer[J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2013, 16(2): 123-131, S1. DOI: 10.1038/pcan.2012.49.
- [16] ANN A. High endothelial venules and other blood vessels: critical regulators of lymphoid organ development and function[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 45-71. DOI:10.3389/fimmu.2017.00045.
- [17] KERSHAW M H, WANG G, WESTWOOD J A, *et al.* Redirecting migration of T cells to chemokine secreted from tumors by genetic modification with CXCR2[J]. *Hum Gene Ther*, 2002, 13(16): 1971-1980. DOI:10.1089/10430340260355374.
- [18] PHAN L M, YEUNG S C J, LEE M H. Cancer metabolic reprogramming: importance, main features, and potentials for precise targeted anti-cancer therapies[J]. *Cancer Biol Med*, 2014, 11 (1): 1-19. DOI:10.7497/j.issn.2095-3941.2014.01.001.
- [19] CHANG C H, QIU J, O'SULLIVAN D, *et al.* Metabolic

- competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression[J]. *Cell*, 2015, 162(6): 1229-1241. DOI: 10.1016/j.cell.2015.08.016.
- [20] FREEMAN G J, LONG A J, IWAI Y, *et al.* Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(7):1027-1034. DOI:10.1084/jem.192.7.1027.
- [21] DONG H D, STROME S E, SALOMAO D R, *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion[J]. *Nat Med*, 2002,8(8):793-800.DOI:10.1038/nm730.
- [22] SIDDIQUI I, SCHAEUBLE K, CHENNUPATI V, *et al.* Intratumoral Tcf1⁺PD-1⁺CD8⁺T cells with stem-like properties promote tumor control in response to vaccination and checkpoint blockade immunotherapy[J]. *Immunity*, 2019,50(1):195-211. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.12.021.
- [23] LI C W, LIM S O, CHUNG E M, *et al.* Eradication of triple-negative breast cancer cells by targeting glycosylated PD-L1[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(2):187-201. DOI:10.1016/j.ccell.2018.01.009.
- [24] GARRIS C S, ARLAUCKAS S P, KOHLER R H, *et al.* Successful anti-PD-1 cancer immunotherapy requires T cell-dendritic cell crosstalk involving the cytokines IFN- γ and IL-12[J]. *Immunity*, 2018, 49(6): 1148-1161. DOI:10.1016/j.immuni.2018.09.024.
- [25] FERRARA R, MEZQUITA L, TEXIER M, *et al.* Hyperprogressive disease in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors or with single-agent chemotherapy[J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(11): 1543-1552. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.3676.
- [26] WANG Y C, ZHOU S H, YANG F, *et al.* Treatment-related adverse events of PD-1 and PD-L1 inhibitors in clinical trials: asystematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(7):1008-1019. DOI:10.1001/jamaoncol.2019.0393.
- [27] LIU M, WANG X, LI W, *et al.* Targeting PD-L1 in non-small cell lung cancer using CART cells[J]. *Oncogenesis*, 2020,9(8):72-82. DOI:10.1038/s41389-020-00257-z.
- [28] YANG C Y, FAN M H, MIAO C H, *et al.* Engineering chimeric antigen receptor T cells against immune checkpoint inhibitors PD-1/PD-L1 for treating pancreatic cancer[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 17:571-585. DOI:10.1016/j.omto.2020.05.009.
- [29] ZHAO W, JIA L Z, ZHANG M J, *et al.* The killing effect of novel bi-specific Trop2/PD-L1 CAR-T cell targeted gastric cancer[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(8):1846-1856[2021-11-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6726977/>.
- [30] YUAN X X, SUN Z J, YUAN Q Y, *et al.* Dual-function chimeric antigen receptor T cells targeting c-Met and PD-1 exhibit potent anti-tumor efficacy in solid tumors[J]. *Invest New Drugs*, 2021,39(1): 34-51. DOI:10.1007/s10637-020-00978-3.
- [31] XU-MONETTE Z Y, ZHANG M Z, LI J Y, *et al.* PD-1/PD-L1 blockade: have we found the key to unleash the antitumor immune response?[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1597[2021-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5723106/>. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01597.
- [32] 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]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847-856. DOI:10.1038/nbt.4195.
- [33] HECZEY A, LOUIS C U, SAVOLDO B, *et al.* CAR T cells administered in combination with lymphodepletion and PD-1 inhibition to patients with neuroblastoma[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(9): 2214-2224. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.05.012.
- [34] SERGANOVA I, MOROZ E, COHEN I, *et al.* Enhancement of PSMA-directed CAR adoptive immunotherapy by PD-1/PD-L1 blockade[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 4:41-54. DOI:10.1016/j.omto.2016.11.005.
- [35] CHERKASSKY L, MORELLO A, VILLENA-VARGAS J, *et al.* Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(8): 3130-3144. DOI:10.1172/JCI83092.
- [36] RUPP L J, SCHUMANN K, ROYBAL K T, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances anti-tumor efficacy of human chimeric antigen receptor T cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 737-750. DOI:10.1038/s41598-017-00462-8.
- [37] GUO X L, JIANG H, SHI B Z, *et al.* Disruption of PD-1 enhanced the anti-tumor activity of chimeric antigen receptor T cells against hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1118[2021-11-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6174208/>. DOI: 10.3389/fphar.2018.01118.
- [38] HU W H, ZI Z G, JIN Y L, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances human mesothelin-targeted CAR T cell effector functions[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(3): 365-377. DOI:10.1007/s00262-018-2281-2.
- [39] SHI X J, ZHANG D Q, LI F, *et al.* Targeting glycosylation of PD-1 to enhance CAR-T cell cytotoxicity[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):127-131.DOI:10.1186/s13045-019-0831-5.
- [40] WEI J S, LUO C, WANG Y, *et al.* PD-1 silencing impairs the anti-tumor function of chimeric antigen receptor modified T cells by inhibiting proliferation activity[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 209-225. DOI:10.1186/s40425-019-0685-y.
- [41] PASSARIELLO M, VETREI C, SASSO E, *et al.* Isolation of two novel human anti-CTLA-4 mAbs with intriguing biological properties on tumor and NK cells[J]. *Cancers*, 2020, 12(8): 2204-2224. DOI:10.3390/cancers12082204.
- [42] GULATI P, RÜHL J, KANNAN A, *et al.* Aberrant Ick signal via CD28 costimulation augments antigen-specific functionality and tumor control by redirected T cells with PD-1 blockade in humanized mice[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(16): 3981-3993. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-1788.
- [43] GUEDAN S, MADAR A, CASADO-MEDRANO V, *et al.* Single residue in CD28-costimulated CAR-T cells limits long-term persistence and antitumor durability[J]. *J Clin Invest*, 2020,130(6): 3087-3097. DOI:10.1172/JCI133215.
- [44] YIN Y B, BOESTEANU A C, BINDER Z A, *et al.* Checkpoint blockade reverses anergy in IL-13R α 2 humanized scFv-based CAR T cells to treat murine and canine gliomas[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2018, 11: 20-38. DOI:10.1016/j.omto.2018.08.002.
- [45] BAI C J, GAO S S, HU S, *et al.* Self-assembled multivalent aptamer nanoparticles with potential CAR-like characteristics could activate T cells and inhibit melanoma growth[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 17: 9-20. DOI:10.1016/j.omto.2020.03.002.

[收稿日期] 2021-11-25

[修回日期] 2022-03-10

[本文编辑] 阮芳铭