

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.07.001

· 专家论坛 ·

基于 mRNA-LNP 的肿瘤免疫疗法

曹学智^{1,2}, 彭华^{1,3}, 傅阳心⁴(1. 生物岛实验室, 广东 广州 510005; 2. 广州实验室, 广东 广州 510005; 3. 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101; 4. 清华大学医学院 基础医学系, 北京 100084)



曹学智 博士、副研究员, 现任生物岛实验室副研究员。长期从事病毒与肿瘤免疫学研究, 目前主要从事 mRNA 疫苗、融合蛋白疫苗、腺病毒载体疫苗, 以及新型佐剂的研发与相关免疫机制的研究, 研究对象主要包括预防性的传染病疫苗和治疗性的肿瘤疫苗, 如新冠病毒疫苗、广谱流感病毒疫苗、呼吸道合胞体病毒疫苗、疱疹病毒疫苗等传染病疫苗和 mRNA 个性化肿瘤疫苗等。主导研发了用于肿瘤免疫治疗的细胞因子前体药, 其中 I 型干扰素前体药已获批开展临床试验, 拟用于晚期实体瘤治疗, 并可联合现有疗法传统肿瘤和/或肿瘤免疫疗法进一步提升其抗肿瘤作用; 主导研发了免疫细胞靶向的融合蛋白疫苗平台和免疫细胞靶向的 mRNA 疫苗平台。研究成果先后发表在 *J Hepatol*、*PLoS Pathog*、*Nat Commun*、*Cell Discov* 等学术期刊, 申请多项发明专利并获得一项专利转让。



彭华 博士、研究员、博士生导师, 现任中国科学院生物物理研究所研究员。长期从事病毒与肿瘤免疫学研究, 目前主要从事慢性病毒感染免疫耐受机制、病毒的预防/治疗性疫苗、病毒感染诱发肿瘤机制的研究和肿瘤疫苗平台的建设, 以及肿瘤免疫耐受机制、新型肿瘤免疫治疗抗体、免疫因子融合蛋白的研究, 研究成果先后发表在 *Sci Immunol*、*Cell Res*、*J Clin Invest*、*Gastro*、*Nat Commun*、*PNAS*、*Nat Med*、*Hepatology*、*Clin Res*、*J Immunol*、*J Biol Chem* 和 *J Virol* 等学术期刊; 获得多项发明专利授权和专利转让, 其中团队研发的有完全自主知识产权的创新型强效新冠病毒融合蛋白疫苗, 与珠海市丽珠单抗生物科技有限公司合作研发的产品 V-01 新冠疫苗即将完成海外 III 期临床试验, 结果显示 V-01 优异的安全性和对抗新冠病毒野生型甚至变异毒株的高效保护性, 对老年和基础患者人群的保护优势尤为突出。



傅阳心 博士、教授、博士生导师, 入选海外高层次人才引进计划(千人计划), 现任清华大学医学院讲席教授, 曾任华盛顿大学住院医师、芝加哥大学病理系主治医师及冠名教授、德州大学西南医学中心病理系冠名教授。在基础和临床医学研究领域均具有重大创新, 已在 *Science*、*Nature*、*Nat Med* 等国际顶尖学术刊物发表 260 多篇高水平的学术研究论文, 文章被引用次数超过 45 000 余次, H-指数 104, 入选为高被引科学家, 成为全球少数同时在医学和基础科研领域都取得突出成绩的临床医学专家和科学家, 在肿瘤免疫学领域内, 其是药物、放射治疗和靶向治疗对免疫系统的细胞及分子机制研究的开拓者, 近年来主持开发了新一代双特异性抗体、融合蛋白、细胞因子前药和抗体前药用于肿瘤免疫治疗, 研究靶向药物、局部辐射、肿瘤靶向抗体对肿瘤微环境、免疫系统的调控机制, 以及发展免疫协同治疗新策略等, 其中多项研究已应用于不同阶段的临床试验, 展现出了极大的应用前景和价值。

[摘要] 新兴的肿瘤免疫疗法是通过激活抗原特异性 T 细胞来实现强大的抗肿瘤反应, 尽管其取得了令人瞩目的进展, 但许多肿瘤患者对这些抗肿瘤疗法仅部分出现反应或根本没有反应。mRNA-脂质纳米颗粒(mRNA-LNP)技术可以应用于肿瘤免疫治疗, 目前正在多个领域进行研究, 包括治疗性肿瘤疫苗、双特异性抗体、细胞因子、共刺激配体和受体以及 CAR-T 细胞治疗等, 而其中研究比较集中的领域则是治疗性肿瘤疫苗和肿瘤内免疫治疗。治疗性肿瘤疫苗使用编码含有在肿瘤中发现的突变肽, 即创建一种由患者肿瘤特有的由新抗原组成的个性化肿瘤疫苗。肿瘤内免疫治疗是通过提供编码有效免疫刺激蛋白的 mRNA 将免疫细胞浸润很少的“冷”肿瘤转化为免疫细胞浸润增加的“热”肿瘤, 以在有限的全身毒性的情况下促进有效的抗肿瘤免疫活性。mRNA-LNP 技术在肿瘤免疫疗法的多个领域的应用为肿瘤免疫治疗注入了新的活力。

[关键词] mRNA 疫苗; 脂质纳米颗粒; 治疗性肿瘤疫苗; 肿瘤免疫治疗; CAR-T 细胞; 细胞因子

[中图分类号] R392.7; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)07-0605-08

[基金项目] 科技部重大慢性非传染性疾病预防研究专项(No.2016YFC1303405); 中科院先导科研 A 类项目(No.XDA12020212)

[作者简介] 曹学智(1984—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事病毒与肿瘤免疫学研究, E-mail: cao_xuezhi@grmh-gdl.cn

[通信作者] 彭华, E-mail: hpeng@moon.ibp.ac.cn

mRNA-LNP-based cancer immunotherapy

CAO Xuezhi^{1,2}, PENG Hua^{1,3}, FU Yangxin⁴ (1. Bioland Laboratory, Guangzhou 510005, Guangdong, China; 2. Guangzhou Laboratory, Guangzhou 510005, Guangdong, China; 3. Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 4. Department of Basic Medical Sciences, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

[Abstract] Emerging cancer immunotherapies achieve robust antitumor responses by activating antigen-specific T cells. Despite the tremendous progresses, many cancer patients respond only partially or not at all to these anticancer therapies. mRNA-lipid nanoparticles (mRNA-LNP) technology can be applied to tumor immunotherapy and is currently being studied in various fields, including therapeutic tumor vaccines, bispecific antibodies, cytokines, costimulatory ligands and receptors and CAR-T cell therapy. The most concentrated research areas are therapeutic cancer vaccines and intratumoral immunotherapy. Therapeutic tumor vaccines use encoding peptides that contain mutations found in the patient's tumor, creating a personalized tumor vaccine composed of neoantigens specific to the patient's tumor. Intratumoral immunotherapy transforms "cold" tumors with little immune cell infiltration into "hot" tumors with increased immune cell infiltration by delivering mRNA encoding potent immune-stimulatory proteins to promote superior anti-tumor immune response with limited systemic toxicity. Tumor immunotherapy is reinvigorated after the application of mRNA-LNP technology in multiple fields of tumor immunotherapy.

[Key words] mRNA vaccine; lipid nanoparticle (LNP); therapeutic tumor vaccine; tumor immunotherapy; CAR-T cell; cytokine

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(7): 605-612. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.07.001]

免疫系统识别、杀伤肿瘤细胞的功能是有效的免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 治疗的理论基础。由于对自身抗原的耐受机制的存在, 针对肿瘤相关抗原的疫苗在很大程度上是无效的^[1]。肿瘤细胞还表达由突变引起的肿瘤特异性抗原, 然后通过主要组织相容性复合体 (MHC) I 类或 II 类分子展示给 T 细胞。这些肿瘤特异性 T 细胞则成为了现代肿瘤免疫疗法的基础^[2]。新抗原肿瘤疫苗则成为肿瘤治疗的前沿热点^[3]。然而, 鉴定免疫原性新表位以及有效安全地递送亚单位疫苗成分以引发有效和强大的抗癌 T 细胞反应仍然存在重大挑战^[4]。mRNA 是一种新兴的引人注目的肿瘤疫苗形式, 以时空同步的方式提供抗原递送和固有免疫激活介导的共刺激。脂质纳米颗粒 (lipid nanoparticle, LNP) 制剂保护 mRNA 免受细胞外 RNases 的影响, 并改善抗原提呈细胞在体内的摄取。新冠病毒病 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 大流行的全球威胁极大地促进了快速反应疫苗的开发, 基于 mRNA 的治疗方法能够同时解决稳定性、递送和免疫原性等几个技术障碍, 被证明可以获得快速开发, 并且符合 GMP 的制造工艺, 易于升级和快速获得大批量成药产品^[5-6]。mRNA 用于肿瘤免疫疗法将不仅仅限于肿瘤疫苗, mRNA 也将向双特异性抗体、细胞因子、共刺激配体和受体, 以及 CAR-T 细胞治疗等肿瘤免疫疗法提供新的策略并产生深远的影响。

1 mRNA-LNP 合成技术的发展

由线性 DNA 模板通过体外转录生成的合成 mRNA, 类似于天然存在的加工成熟 mRNA 分子, 包含 5' 帽结

构、5' 非翻译区域、编码区、3' 非翻译区域和 3' poly (A) 尾巴。人工合成的 mRNA 不进入细胞核, 也不整合到基因组中, mRNA 只出现在细胞质中并进行蛋白质翻译。来自合成 mRNA 与从细胞内源 mRNA 翻译的蛋白质无法区分, 该蛋白质经过翻译后修饰, 并通过靶向序列或穿膜结构域进入亚细胞器中, 例如分泌途径、细胞膜、细胞核、线粒体或过氧化物酶体等。同时, 蛋白质降解后形成的表位短肽提呈在 MHC 复合物上^[7]。

长期以来, 人们认为裸露的 mRNA 对于药物应用不够稳定, 因为其容易被普遍存在的 RNase 快速降解, 并且不能被抗原提呈细胞有效地内化。在翻译成蛋白质的同时, 外源 mRNA 还具有内在免疫活化功能, 可激活 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 中的 TLR3、TLR7 和 TLR8, 或视黄酸诱导基因 1 和黑色素瘤分化相关蛋白 5 下游干扰素 (IFN) 相关通路, 从而触发固有免疫。尽管这种内在的免疫刺激活性可以起到佐剂样作用以增强免疫反应, 但不幸的是免疫活化可能同时促进 mRNA 降解, 降低了抗原表达^[8]。辉瑞公司和拜恩泰科公司 (BioNTech) 开发的 BNT162b2 mRNA 疫苗是美国食品和药物管理局 (FDA) 历史上第一个批准的 mRNA 疫苗。III 期临床试验结果^[6, 9]表明, mRNA 疫苗对预防 COVID-19 有 95% 的有效性。尽管 BNT162b2 mRNA 疫苗取得了成功, 但作为其效应基础的免疫机制却没有被研究清楚。而最近的一项研究^[10]则揭示了这一谜团。该研究分析了在小鼠中接种 BNT162b2 疫苗后的固有免疫反应和适应性免疫反应, 发现疫苗免疫刺激了强劲的抗体和抗原特异性 T 细胞反应, 并在二次免疫后显著增强了固有

免疫反应,二次免疫1 d后血清IFN- γ 水平升高,而引流淋巴结中的NK细胞和CD8⁺T细胞是这种循环IFN- γ 的主要产生者。对敲除TLR2~5、7基因的小鼠的分析表明,对BNT162b2的抗体和T细胞反应的诱导不依赖于TLR2、TLR3和TLR4、TLR5和TLR7信号通路,也不依赖于炎症小体激活及坏死性凋亡或细胞焦亡等细胞死亡途径。相反,由BNT162b2诱导的CD8⁺T细胞反应依赖于I型IFN依赖的黑色素瘤分化相关蛋白5信号转导。

在过去的30年中,人们在提高合成mRNA细胞内稳定性、翻译效率和摄取方面做出了广泛的努力。这些优化措施包括:5'帽的修饰,如最广泛使用的体外转录后牛痘加帽系统^[11],抗反向帽类似物(anti-reverse cap analog,ARCA)^[12],新一代CleanCap[™]共转录帽类似物^[13];3'非翻译区域的优化,如人类的 α -球蛋白和 β -球蛋白含有翻译和稳定性调节元件,通常用作合成mRNA的3'非翻译区域^[14];3' poly(A)尾修饰^[15-16]和核苷酸的修饰,如用假尿苷(Ψ)、1-甲基假尿苷(1m Ψ)和5-甲基胞苷(m5C)替代天然尿苷和胞苷,可以显著降低固有免疫的激活并增加mRNA的翻译能力^[17-19];高效的mRNA递送系统,如基于胆固醇、可离子化和辅助脂质及PEG衍生物的复合物的LNP^[20]。最新的研究^[21]报告了一种稳定性很高的环状RNA(circular RNA,circRNA)疫苗。circRNA缺乏翻译成蛋白质所必要的元件5'帽,但是可以通过引入内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site,IRES)以实现蛋白质翻译。与现在广泛使用1m Ψ 修饰的新冠mRNA疫苗相比,circRNA疫苗没有使用核苷酸修饰就能够产生更高水平和更持久时间的抗原,并引发更高比例的中和抗体和明显的Th1偏向的免疫反应。目前的研究数据表明,circRNA具有十分良好的应用前景。这些策略提高了合成mRNA翻译效率,并克服了其固有免疫原性,极大地推进了mRNA技术的发展。

2 基于mRNA-LNP个性化的肿瘤疫苗

新抗原仅存在于肿瘤细胞中,因此不存在中枢耐受性和自身免疫问题。这种肿瘤特异性抗原可以来源于病毒蛋白和体细胞突变^[22]。即使是同一类型的肿瘤,也会因每个人的具体情况而有很大差异,而基于患者肿瘤活检样本测序分析确定的突变组为肿瘤患者提供了个性化肿瘤疫苗的方案^[23-24]。

2.1 mRNA-4157

莫德纳(Moderna)公司和默克(Merck)公司合作研发的LNP包裹的mRNA的个性化肿瘤疫苗mRNA-4157,编码含有每个患者特定肿瘤中存在的独特突

变的肽(新抗原)。当注入体内时,mRNA会指导细胞产生和表达这些新抗原,后者反过来又会激活免疫系统以更好地识别和破坏癌细胞。mRNA-4157作为单药治疗实体瘤切除患者(A部分)或与默克公司的抗PD-1派姆单抗(pembrolizumab)联合用药临床试验,分析治疗晚期/转移性实体瘤患者(B部分)的安全性和有效性。A、B部分中选定的实体瘤包括黑色素瘤、膀胱癌、人乳头状瘤病毒(human papilloma virus,HPV)阴性头颈部鳞状细胞癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、微卫星不稳定性高或肿瘤突变负荷高的肿瘤。扩展的研究对象包括:未接受ICI治疗的微卫星稳定性结直肠癌、HPV阴性头颈部鳞状细胞癌(C部分)和黑色素瘤切除(D部分)的患者。其中,79例患者接受mRNA-4157治疗,其中16例接受单一疗法、63例接受与派姆单抗的联合治疗。分析结果显示,仅存在低级别和可逆治疗相关的不良反应。14/16 A部分患者在研究中保持无病状态,B部分的28例患者、C部分的27例患者和D部分的8例患者接受联合治疗,观察到3例完全缓解(CR)和8例部分缓解(PR)病例。在10例未接受ICI的HPV阴性头颈部鳞状细胞癌患者中,客观缓解率(ORR)为50%,中位无进展生存期(mPFS)为9.8个月,显著高于派姆单抗单药治疗组的ORR(14.6%)和mPFS(2个月),结果表明,mRNA-4157与派姆单抗联合使用时具有可接受的安全性以及显著提高的临床反应率^[25-26]。目前,该项研究正处于II期临床试验(NCT03313778)阶段。

2.2 RO7198457

另一个研究领先的mRNA个性化肿瘤疫苗是由拜恩泰科(BioNTech)公司开发的RO7198457,包含多达20个肿瘤特异性新表位,旨在刺激T细胞对新抗原的反应。拜恩泰科公司和罗氏(Roche)公司合作,在人体Ib期研究中,RO7198457与罗氏公司的PD-L1单抗阿特朱单抗(atezolizumab)首次在晚期或转移性实体瘤患者中进行研究。总共有132例患者参加了联合治疗,最常见的肿瘤类型是非小细胞肺癌、三阴性乳腺癌、黑色素瘤和结直肠癌,结果显示,RO7198457与阿特朱单抗联用具有可控的安全性,与研究药物的作用机制一致,并诱导显著高水平的新抗原特异性免疫反应。在接受至少1次肿瘤评估的108例患者中,9例缓解,包括1例CR,ORR仅为8%^[27]。在评估结果后,这两家公司开始一项开放的II期临床试验,对201例切除肿瘤的晚期直肠癌患者进行试验。

3 基于mRNA-LNP的双特异性T细胞激动剂(bispecific T-cell engager, BiTE)

单克隆抗体是抗肿瘤中早已建立的治疗方式,

用于靶向肿瘤细胞和调节免疫细胞反应。BiTE是一类人工双特异性单克隆抗体,分子量约55 000的单肽融合蛋白,由不同抗体的两个单链可变片段(single-chain variable fragment, ScFv)组成。与普通的单克隆抗体不同,BiTE的一个ScFv通过CD3受体与T细胞结合;另一个通过肿瘤特异性分子与肿瘤细胞结合形成了T细胞和肿瘤细胞之间的联系,导致T细胞通过产生穿孔素和颗粒酶等蛋白质对肿瘤细胞发挥细胞毒性^[28]。一个成功的例子是博纳吐单抗(blinatumomab)^[29],是一种CD19×CD3形式的BiTE,可将T细胞与淋巴瘤细胞共同聚集,有效发挥T细胞的杀伤活性^[30],并被批准用于治疗急性淋巴细胞白血病^[31-32]。BiTE的小分子量允许有效穿透肿瘤组织,但生产制造方面的挑战和血清半衰期短阻碍了该药物分子的应用潜力。然而,这些缺点可以通过使用工程化的mRNA在患者体内产生BiTE来规避。在小鼠肿瘤模型中,利用mRNA-LNP递送紧密连接蛋白claudin 6和T细胞受体(TCR)相关分子CD3的BiTE。数据表明,低剂量mRNA-LNP会持续编码产生治疗水平的claudin 6×CD3形式的BiTE,其半衰期在天然产生的免疫球蛋白范围内。在移植人类外周血单个核细胞(PBMC)的NSG小鼠中未检测到促炎细胞因子的释放,表明没有非特异性T细胞激活,也没有证据表明肝毒性的存在。重复使用mRNA-LNP是可行的,并产生可重复的BiTE蛋白的药理学效应,为临床适用的给药方案的开发提供了良好的基础^[33]。

4 基于mRNA-LNP的细胞因子/共刺激因子疗法

重组刺激性细胞因子是一种经过临床前验证的治疗概念,但其临床开发受到严重毒性的阻碍。如高剂量IL-2和IFN- α 的低缓解率和高毒性使这些细胞因子的临床应用倾向于被靶向治疗和ICI所取代^[34]。T细胞的激活需要抗原提呈细胞传递的共刺激信号。如果没有共同刺激,T细胞要么死亡,要么变得无反应^[35]。而针对肿瘤微环境中的共刺激分子的激动剂抗体疗法是高度通用的,使其成为肿瘤免疫治疗的理想候选药物分子^[36]。但和细胞因子相似,毒性作用也阻碍其临床转化。例如,肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族成员4-1BB激动抗体的肝毒性就是一个严重问题^[37]。

基于mRNA-LNP的细胞因子/共刺激因子疗法似乎至少可以通过以下两种方式降低其毒性:(1)肿瘤内局部注射mRNA-LNP,让细胞因子集中表达在肿瘤内;(2)静脉内给予mRNA-LNP,让细胞因子集中表达在肝内,用于肝癌的治疗。但前者的未来应用前景更加广阔。肿瘤内的免疫学研究专注于驱动强大

的、特异性的抗肿瘤T细胞反应,将具有免疫抑制微环境的“冷”肿瘤转化为免疫活化的“热”肿瘤,从而产生有效的抗肿瘤免疫反应。其目标是发现和开发肿瘤内局部给药介导的免疫疗法,以提供编码有效免疫刺激蛋白的mRNA。这些蛋白可以作用于注射的肿瘤部位,降低全身毒性,并可能在远端产生“异位效应”使肿瘤部位也受到影响。

4.1 单个细胞因子/共刺激因子mRNA-LNP疗法

4.1.1 IL-12 IL-12是Th1免疫的有效介质,在小鼠肿瘤模型中发挥显著的抗肿瘤活性。但在人类中IL-12全身给药后会潜在致命毒性^[38-39]。然而,通过mRNA-LNP直接将IL-12递送到肿瘤中,肿瘤内的细胞可能会在局部微环境中高表达IL-12,使得以前将IL-12蛋白递送到血液中产生的全身不良反应更容易得到控制。通过肿瘤内局部表达IL-12,可能导致T细胞对肿瘤的强烈攻击,并产生新的肿瘤特异性T细胞,进入血液淋巴循环,在转移性肿瘤中引发“异位效应”,肿瘤局部注射不仅使该肿瘤缩小,还会引起身体其他部位的肿瘤缩小。

由莫德纳公司和阿斯利康(AstraZeneca)公司合作开发的LNP包裹mRNA的单链IL-12(scIL-12)瘤内免疫疗法,通过肿瘤内局部注射的mRNA-LNP来递送编码由p35和p40亚基组成的scIL-12,使之在肿瘤局部得以表达。在小鼠肿瘤模型中,单次瘤内注射可致使肿瘤消退,并且肿瘤完全消退的动物表现出对再次肿瘤接种的免疫力,同时也导致未经注射的远端肿瘤的消退,而这些抗肿瘤作用依赖于IFN- γ 和CD8⁺T细胞。重要的是,编码膜连接的scIL-12的mRNA的瘤内递送也推动了未注射病变的排斥反应,这支持了局部IL-12可以诱导针对远端病变的全身性抗肿瘤免疫反应的假设^[40]。在相应的I期临床试验中,人类scIL-12-LNP(MEDI1191)正在以瘤内给药的方式进行单一疗法或与阿斯利康公司的抗PD-L1单抗德瓦鲁单抗(durvalumab)联合使用对87例实体瘤患者的疗效评估正在进行中(NCT03946800)^[41]。

在另一项研究中,scIL-12 mRNA-LNP静脉内给药治疗MYC致癌基因驱动的肝细胞癌小鼠,含有报告基因mRNA的LNP表明,翻译的蛋白质仅限于肿瘤以及肝和脾的非恶性区域。scIL-12 mRNA-LNP静脉内给药可缩小肝肿瘤并延长生存期,而无明显的肝毒性。重要的是,scIL-12 mRNA-LNP对转MYC基因水平没有影响,证实其治疗功效与驱动癌基因的下调无关,但引起活化的CD44⁺CD3⁺CD4⁺Th细胞显著浸润到肿瘤组织中,并增加IFN- γ 的分泌^[42]。

4.1.2 OX40L 最佳的T细胞反应需要TCR激活和共刺激信号。OX40共刺激分子是TNF受体家族成员

之一,OX40L与OX40结合可促进CD4⁺和CD8⁺T细胞扩增,增强记忆反应并抑制Treg细胞功能^[43]。莫德纳公司研发的mRNA-2416是一种基于mRNA的LNP治疗剂,可表达野生型人源OX40L。mRNA-2416正单独或与阿斯利康公司的抗PD-L1单抗德瓦鲁单抗联合,对117例晚期、复发性或转移性实体瘤或淋巴瘤患者瘤内注射的I/II期临床试验(NCT03323398)正在进行中。目前的单一疗法结果表明,肿瘤内注射各种剂量的mRNA-2416都是可耐受的,并且肿瘤治疗后的结果分析表明,OX40L蛋白表达增加、PD-L1水平升高和促炎因子活性增强。结合对PD-L1阻断的临床前体内协同作用的观察,这些数据支持肿瘤内注射mRNA-2416与抗PD-L1单抗德瓦鲁单抗在实体瘤治疗中的良好疗效的评估^[44]。

4.2 联合细胞因子/共刺激因子mRNA-LNP疗法

4.2.1 IL-23/IL-36 γ /OX40L 各种mRNA可以很容易地混合并配制为单一药物产品,这种技术特性促进了细胞因子mRNA联合疗法的发展。IL-23促进炎症,协调免疫系统对外来入侵者(如细菌和病毒)的反应;IL-36 γ 感知病原体诱导的细胞损伤,是上皮组织内免疫反应和病毒性炎症的关键启动器。在小鼠肿瘤模型中,这三者组合形成的IL-23/IL-36 γ /OX40L三联体mRNA-LNP(mRNA-2752)触发大量免疫细胞募集到肿瘤中,无论先前的肿瘤免疫浸润如何,都能有效地破坏肿瘤。IL-23/IL-36 γ /OX40L三联体mRNA-2752治疗可诱导下游细胞因子和趋化因子表达,并且还激活多种类型的DC和T细胞,该治疗效果取决于Batf3依赖性交叉提呈DC和细胞毒性CD8⁺T细胞^[45]。在相应的I期临床试验^[46-47]中,人类IL-23/IL-36 γ /OX40L三联体mRNA-2752作为单一疗法或与阿斯利康公司的抗PD-L1单抗德瓦鲁单抗联合,用于可触及到的肿瘤的患者或者通过图像引导后能到达肿瘤的患者,该研究正在对264例患者中进行I期临床试验(NCT03739931),结果表明,mRNA-2752作为单一疗法或与德瓦鲁单抗联合使用,患者对所有剂量水平都是可耐受的,可引起肿瘤缩小。对肿瘤和血清生物标志物的分析结果表明,治疗具有持续的免疫调节作用,包括升高的IFN- γ 、TNF- α 和PD-L1水平。该研究正在扩展招募三阴性乳腺癌、膀胱尿路上皮癌、淋巴瘤、免疫检查点难治性黑色素瘤和非小细胞肺癌的患者。

4.2.2 四联细胞因子mRNA(scIL-12/IFN- α /GM-CSF/IL-15 sushi) scIL-12/IFN- α /GM-CSF/IL-15 sushi是由赛诺菲(Sanofi)公司研发的四联细胞因子mRNA局部免疫治疗制剂。在小鼠肿瘤模型中,该四联细胞因子mRNA单独使用或与抗PD-1单抗联合使用,跨

越12个同基因小鼠肿瘤模型,代表不同范围的小鼠肿瘤类型。用四联细胞因子mRNA进行单药治疗后,在12个肿瘤模型中的8个中产生了显著的抗肿瘤反应。将四联细胞因子mRNA与全身性抗PD-1免疫疗法相结合,进一步改善了抗肿瘤反应,并在另外两种对单药治疗无反应的模型中抑制了肿瘤生长。局部四联细胞因子mRNA免疫疗法与ICI的联合,治疗结果展现出对代表不同小鼠肿瘤类型的一系列临床前肿瘤模型中抗肿瘤活性的增强。目前,人四联细胞因子mRNA scIL-12/IFN- α /GM-CSF/15 sushi (SAR441000)单独或与赛诺菲公司的抗PD-1单抗西米普利单抗(cemiplimab)联合,对231例转移性肿瘤患者I期临床试验(NCT03871348)^[48]正在进行中。

5 基于mRNA-LNP的CAR-T细胞疗法

CAR-T细胞疗法是革命性里程碑,因为它产生了非常有效和持久的临床反应^[49]。CAR与细胞表面表达的靶抗原的结合独立于MHC受体,导致T细胞强烈活化和强大的抗肿瘤反应^[50]。CD19靶向的CAR-T细胞是最先进的,有超过80%的缓解率(一半为CR),一些产品已获得批准用于治疗B细胞白血病和淋巴瘤^[51-52]。通常应用逆转录病毒或慢病毒技术来改造抗原受体表达细胞,稳定转导的CAR-T细胞非常有效,其功效与其持续存在的能力有关。与病毒转导相比,mRNA-LNP的瞬时表达不会造成转导基因的基因组整合和恶性转化的风险。而且mRNA-LNP转染可以向淋巴细胞同时递送多种mRNA-LNP,例如免疫刺激细胞因子^[53]、趋化因子受体^[54-55],或Cas9介导的基因组编辑^[56]等。但是mRNA-LNP转染导致的CAR在T细胞表面表达只能短时间维持,这使得基于mRNA-LNP的CAR-T细胞疗法在临床应用面临挑战,因为清除肿瘤需要足够的时间。

最近的一项关于治疗心肌纤维化的研究意外地在基于mRNA-LNP的CAR-T细胞疗法开辟了一条全新的道路。CD5在淋巴细胞前体、成熟T细胞和成熟B细胞亚群(B1a细胞)上组成型表达^[57]。该研究开发了一种治疗方法,无需在体外获取小鼠的T细胞再转染,而是直接通过靶向CD5的mRNA-LNP注射到心力衰竭小鼠模型中,在体内T细胞中递送CAR mRNA产生瞬时抗纤维化的CAR-T细胞,以此来评估这些在动物体内重编程的CAR-T细胞的功效。研究结果表明,可以观察到编码CAR的mRNA向T细胞的有效递送,使在体内产生了瞬时、有效的CAR-T细胞。用CD5靶向的mRNA-LNP治疗可减少纤维化并恢复损伤的心功能。体内生成CAR-T细胞的技术有望成为治疗肿瘤及其他各种疾病的治疗平台^[58]。

6 结 语

在 COVID-19 大流行发生后不到一年的时间里, 针对 COVID-19 的 mRNA 疫苗的开发和授权展示了 mRNA-LNP 技术的巨大应用潜力。这种对大流行的快速反应是利用了几十年来所探索的用于治疗性肿瘤疫苗开发的 mRNA-LNP 技术的丰富经验。反之, 在将 mRNA 首次从疫苗研发推向商业产品的过程中所获得的经验, 将反馈到 mRNA-LNP 技术在肿瘤免疫治疗中的应用。mRNA-LNP 技术具有以下优势: (1) mRNA 是非整合的, 可降解性强, 无插入突变风险, 且不含细胞和致病性病毒成分, 没有感染的可能性; (2) mRNA 本身可激活固有免疫反应以增强适应性免疫反应, 具备自我佐剂特点; (3) mRNA 可同时编码多种蛋白质, 这些蛋白质可以是不同抗原的组合, 也可以是不同药物的组合, 打开了多联疫苗或联合用药的大门; (4) mRNA 生产周期短、速度快、规模大、成本低。mRNA-LNP 技术功能的多样性和灵活性, 使其很容易扩展到个性化肿瘤疫苗之中, 例如双特异性抗体、细胞因子、共刺激配体和受体, 以及 CAR-T 细胞治疗等肿瘤免疫疗法, mRNA-LNP 双特异性抗体可以克服生产制造方面的挑战和血清半衰期短的特点, 肿瘤内注射编码细胞因子和共刺激因子的 mRNA-LNP 证明了其具有抗肿瘤免疫活性的同时避免了由于脱靶作用导致的药物毒性。mRNA-LNP CAR-T 细胞有可能提高 CAR-T 细胞治疗的安全性。由于上述的优势, 基于 mRNA-LNP 的肿瘤免疫治疗已成功进入临床试验。虽然 mRNA-LNP 技术在较短的时间内已经取得了很大的进展, 但其技术还有不完善的方面: 一是目前的 mRNA-LNP 配方难以实现热稳定性, 对储藏运输条件较为苛刻; 二是由于 LNP 的杂质, 可能存在严重的不良反应。随着 mRNA-LNP 技术的不断进步与革新, 相信这些缺点会得到改善甚至完全被克服。总之, mRNA-LNP 是一个功能强大、用途广泛的疫苗和药物开发平台, 有望成为未来肿瘤疫苗和药物开发的主要支柱之一。mRNA-LNP 成功地向临床转化, 为肿瘤免疫治疗注入了新的活力, 将显著增强抗肿瘤的能力。

[参 考 文 献]

- [1] HOLLINGSWORTH R E, JANSEN K. Turning the corner on therapeutic cancer vaccines[J/OL]. *NPJ Vaccines*, 2019, 4: 7[2022-04-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34676147/>. DOI: 10.1038/s41541-019-0103-y.
- [2] YARCHOAN M, JOHNSON B A 3rd, LUTZ E R, *et al.* Targeting neoantigens to augment antitumour immunity[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(4): 209-222. DOI:10.1038/nrc.2016.154.
- [3] 虞淦军, 吴艳峰, 曹雪涛. 个性化新抗原肿瘤疫苗: 道阻且长, 未来可期[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(1): 1-10. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.01.001.
- [4] GUO Y G, LEI K W, TANG L. Neoantigen vaccine delivery for personalized anticancer immunotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1499[2022-04-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30013560/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.01499.
- [5] ANDERSON E J, ROUPHAEL N G, WIDGE A T, *et al.* Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults[J/OL]. *N Engl J Med*, 2020, 383(25): 2427-2438[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7556339/>. DOI:10.1056/NEJMoa2028436.
- [6] POLACK F P, THOMAS S J, KITCHIN N, *et al.* Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA covid-19 vaccine[J/OL]. *N Engl J Med*, 2020, 383(27): 2603-2615[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7745181/>. DOI:10.1056/NEJMoa2034577.
- [7] BECK J D, REIDENBACH D, SALOMON N, *et al.* mRNA therapeutics in cancer immunotherapy[J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 69. DOI:10.1186/s12943-021-01348-0.
- [8] PARDI N, HOGAN M J, PORTER F W, *et al.* mRNA vaccines - a new era in vaccinology[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(4): 261-279[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5906799/>. DOI:10.1038/nrd.2017.243.
- [9] WALSH E E, FRENCK R W Jr, FALSEY A R, *et al.* Safety and immunogenicity of two RNA-based covid-19 vaccine candidates [J/OL]. *N Engl J Med*, 2020, 383(25): 2439-2450[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7583697/>. DOI: 10.1056/NEJMoa2027906.
- [10] LI C F, LEE A, GRIGORYAN L, *et al.* Mechanisms of innate and adaptive immunity to the Pfizer-BioNTech BNT162b2 vaccine[J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(4): 543-555. DOI: 10.1038/s41590-022-01163-9.
- [11] MUTTACH F, MUTHMANN N, RENTMEISTER A. Synthetic mRNA capping[J/OL]. *Beilstein J Org Chem*, 2017, 13: 2819-2832[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5753152/>. DOI: 10.3762/bjoc.13.274.
- [12] RYDZIK A M, KULIS M, LUKASZEWICZ M, *et al.* Synthesis and properties of mRNA cap analogs containing imidodiphosphate moiety-fairly mimicking natural cap structure, yet resistant to enzymatic hydrolysis[J]. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20(5): 1699-1710. DOI:10.1016/j.bmc.2012.01.013.
- [13] VAIDYANATHAN S, AZIZIAN K T, HAQUE A K M A, *et al.* Uridine depletion and chemical modification increase Cas9 mRNA activity and reduce immunogenicity without HPLC purification [J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12: 530-542[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6076213/>. DOI: 10.1016/j.omtn.2018.06.010.
- [14] WEISSMAN D. mRNA transcript therapy[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2015, 14(2): 265-281. DOI:10.1586/14760584.2015.973859.
- [15] LIMA S A, CHIPMAN L B, NICHOLSON A L, *et al.* Short poly(A) tails are a conserved feature of highly expressed genes[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24(12): 1057-1063. DOI: 10.1038/nsmb.3499.
- [16] LINARES-FERNÁNDEZ S, LACROIX C, EXPOSITO J Y, *et al.* Tailoring mRNA vaccine to balance innate/adaptive immune response[J]. *Trends Mol Med*, 2020, 26(3): 311-323. DOI:10.1016/j.molmed.2019.10.002.
- [17] KARIKÓ K, BUCKSTEIN M, NI H P, *et al.* Suppression of RNA

- recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA[J]. *Immunity*, 2005, 23(2): 165-175. DOI:10.1016/j.immuni.2005.06.008.
- [18] KARIKÓ K, MURAMATSU H, WELSH F A, *et al.* Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability [J/OL]. *Mol Ther*, 2008, 16(11): 1833-1840[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2775451/>. DOI: 10.1038/mt.2008.200.
- [19] WILLIS E, PARDI N, PARKHOUSE K, *et al.* Nucleoside-modified mRNA vaccination partially overcomes maternal antibody inhibition of de novo immune responses in mice[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(525): eaav5701[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7339908/>. DOI:10.1126/scitranslmed.aav5701.
- [20] GUAN S, ROSENECKER J. Nanotechnologies in delivery of mRNA therapeutics using nonviral vector-based delivery systems[J]. *Gene Ther*, 2017, 24(3): 133-143. DOI:10.1038/gt.2017.5.
- [21] QU L, YI Z Y, SHEN Y, *et al.* Circular RNA vaccines against SARS-CoV-2 and emerging variants[J/OL]. *Cell*, 2022: S0092-S8674(22) 00394-4[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8971115/>. DOI:10.1016/j.cell.2022.03.044.
- [22] BLASS E, OTT P A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(4): 215-229. DOI:10.1038/s41571-020-00460-2.
- [23] OTT P A, HU Z T, KESKIN D B, *et al.* An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 217-221. DOI:10.1038/nature22991.
- [24] SAHIN U, DERHOVANESSIAN E, MILLER M, *et al.* Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 222-226. DOI:10.1038/nature23003.
- [25] BAUMAN J, BURRIS H, CLARKE J, *et al.* 798 Safety, tolerability, and immunogenicity of mRNA-4157 in combination with pembrolizumab in subjects with unresectable solid tumors (KEYNOTE-603): an update [J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(Suppl 3): A846[2022-04-12]. <http://dx.doi.org/10.1136/jitc-2020-SITC2020.0798>. DOI:10.1136/jitc-2020-SITC2020.0798.
- [26] BURRIS H A, PATEL M R, CHO D C, *et al.* A phase I multicenter study to assess the safety, tolerability, and immunogenicity of mRNA-4157 alone in patients with resected solid tumors and in combination with pembrolizumab in patients with unresectable solid tumors[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15_Suppl): 2523[2022-04-12]. https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15_suppl.2523. DOI: 10.1200/jco.2019.37.15_suppl.2523.
- [27] LOPEZ J S, CAMIDGE R, IAFOLLA M, *et al.* Abstract CT301: a phase Ib study to evaluate RO7198457, an individualized neoantigen specific immunotherapy (iNeST), in combination with atezolizumab in patients with locally advanced or metastatic solid tumors[C/OL]// *Bioinformatics, Convergence Science, and Systems Biology. American Association for Cancer Research*, 2020, 80(16_Suppl): CT301[2022-04-12]. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2020-ct301>. DOI:10.1158/1538-7445.am2020-ct301.
- [28] GARBER K. Bispecific antibodies rise again[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(11): 799-801. DOI:10.1038/nrd4478.
- [29] KANTARJIAN H, STEIN A, GÖKBUGET N, *et al.* Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia [J/OL]. *N Engl J Med*, 2017, 376(9): 836-847[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5881572/>. DOI: 10.1056/NEJMoa1609783.
- [30] BARGOU R, LEO E, ZUGMAIER G, *et al.* Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody[J]. *Science*, 2008, 321(5891): 974-977. DOI:10.1126/science.1158545.
- [31] SPIESS C, ZHAI Q T, CARTER P J. Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies[J]. *Mol Immunol*, 2015, 67(2 Pt A): 95-106. DOI:10.1016/j.molimm.2015.01.003.
- [32] TOPP M S, KUFER P, GÖKBUGET N, *et al.* Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(18): 2493-2498. DOI:10.1200/JCO.2010.32.7270.
- [33] STADLER C R, BÄHR-MAHMUD H, CELIK L, *et al.* Erratum: Elimination of large tumors in mice by mRNA-encoded bispecific antibodies[J/OL]. *Nat Med*, 2017, 23(10): 1241[2022-04-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28985209/>. DOI: 10.1038/nm1017-1241d.
- [34] BERRAONDO P, SANMAMED M F, OCHOA M C, *et al.* Cytokines in clinical cancer immunotherapy[J]. *Br J Cancer*, 2019, 120(1): 6-15. DOI: 10.1038/s41416-018-0328-y.
- [35] SHARPE A H, ABBAS A K. T-cell costimulation--biology, therapeutic potential, and challenges[J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(10): 973-975. DOI:10.1056/NEJMp068087.
- [36] O'NEILL R E, CAO X F. Co-stimulatory and co-inhibitory pathways in cancer immunotherapy[J/OL]. *Adv Cancer Res*, 2019, 143: 145-194[2022-04-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31202358/>. DOI: 10.1016/bs.acr.2019.03.003.
- [37] SEGAL N H, LOGAN T F, HODI F S, *et al.* Results from an integrated safety analysis of urelumab, an agonist anti-CD137 monoclonal antibody[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(8): 1929-1936. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-16-1272.
- [38] LEONARD J P, SHERMAN M L, FISHER G L, *et al.* Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12-associated toxicity and interferon-gamma production[J]. *Blood*, 1997, 90(7): 2541-2548.
- [39] MOTZER R J, RAKHIT A, SCHWARTZ L H, *et al.* Phase I trial of subcutaneous recombinant human interleukin-12 in patients with advanced renal cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 1998, 4(5): 1183-1191.
- [40] HEWITT S L, BAILEY D, ZIELINSKI J, *et al.* Intratumoral IL12 mRNA therapy promotes TH1 transformation of the tumor microenvironment[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(23): 6284-6298. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-20-0472.
- [41] MARRON T, SUBBIAH V, HAMID O, *et al.* 1075TiP MEDI1191, a novel IL-12 mRNA therapy for intratumoral (IT) injection for advanced solid tumours[J/OL]. *Ann Oncol*, 2020, 31: S730[2022-04-12]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.1195>. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.08.1195.
- [42] LAI I, SWAMINATHAN S, BAYLOT V, *et al.* Lipid nanoparticles that deliver IL-12 messenger RNA suppress tumorigenesis in MYC oncogene-driven hepatocellular carcinoma[J/OL]. *J Immunother*

- Cancer, 2018, 6(1): 125[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6247677/>. DOI:10.1186/s40425-018-0431-x.
- [43] CROFT M, SO T, DUAN W, *et al.* The significance of OX40 and OX40L to T-cell biology and immune disease[J/OL]. *Immunol Rev*, 2009, 229(1): 173-191[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2729757/>. DOI:10.1111/j.1600-065X.2009.00766.x.
- [44] JIMENO A, GUPTA S, SULLIVAN R, *et al.* Abstract CT032: a phase 1/2, open-label, multicenter, dose escalation and efficacy study of mRNA-2416, a lipid nanoparticle encapsulated mRNA encoding human OX40L, for intratumoral injection alone or in combination with durvalumab for patients with advanced malignancies[C/OL]//*Tumor Biology*. American Association for Cancer Research, 2020, 80 (16_Suppl): CT032[2022-04-12]. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2020-ct032>. DOI:10.1158/1538-7445.am2020-ct032.
- [45] HEWITT S L, BAI A L, BAILEY D, *et al.* Durable anticancer immunity from intratumoral administration of IL-23, IL-36 γ , and OX40L mRNAs[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(477): eaat9143 [2022-04-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30700577/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aat9143.
- [46] PATEL M, JIMENO A, WANG D, *et al.* 539 Phase 1 study of mRNA-2752, a lipid nanoparticle encapsulating mRNAs encoding human OX40L/IL-23/IL-36 γ , for intratumoral (ITu) injection +/- durvalumab in advanced solid tumors and lymphoma[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(Suppl 2): A569[2022-04-12]. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-site2021.539>. DOI:10.1136/jitc-2021-site2021.539.
- [47] PATEL M R, BAUER T M, JIMENO A, *et al.* A phase I study of mRNA-2752, a lipid nanoparticle encapsulating mRNAs encoding human OX40L, IL-23, and IL-36 γ , for intratumoral (iTu) injection alone and in combination with durvalumab[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(15_suppl): 3092[2022-04-12]. https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15_suppl.3092. DOI:10.1200/jco.2020.38.15_suppl.3092.
- [48] MALKOVA N V, TOLSTYKH T, LEVIT M, *et al.* Abstract 4451: combination of local mRNA immunotherapy with systemic immune checkpoint blockade demonstrates anti-tumor activity across a diverse range of preclinical syngeneic tumor models[C/OL]//*Immunology*. American Association for Cancer Research, 2020, 80 (16_Suppl): 4451[2022-04-12]. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2020-4451>. DOI:10.1158/1538-7445.am2020-4451.
- [49] 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.
- [50] SADELAIN M, BRENTJENS R, RIVIÈRE I. The basic principles of chimeric antigen receptor design[J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(4): 388-398. DOI:10.1158/2159-8290.CD-12-0548.
- [51] MAUDE S L, LAETSCH T W, BUECHNER J, *et al.* Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5): 439-448. DOI:10.1056/NEJMoa1709866.
- [52] NEELAPU S S, LOCKE F L, BARTLETT N L, *et al.* Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(26): 2531-2544. DOI: 10.1056/NEJMoa1707447.
- [53] LEE J M, YOON S H, KIM H S, *et al.* Direct and indirect antitumor effects by human peripheral blood lymphocytes expressing both chimeric immune receptor and interleukin-2 in ovarian cancer xenograft model[J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17(10): 742-750. DOI: 10.1038/cgt.2010.30.
- [54] CARLSTEN M, LEVY E, KARAMBELKAR A, *et al.* Efficient mRNA-based genetic engineering of human NK cells with high-affinity CD16 and CCR7 augments rituximab-induced ADCC against lymphoma and targets NK cell migration toward the lymph node-associated chemokine CCL19[J/OL]. *Front Immunol*, 2016, 7: 105[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4801851/>. DOI:10.3389/fimmu.2016.00105.
- [55] NG Y Y, TAY J C K, WANG S. CXCR1 expression to improve anti-cancer efficacy of intravenously injected CAR-NK cells in mice with peritoneal xenografts[J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2019, 16: 75-85[2022-04-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31970285/>. DOI:10.1016/j.omto.2019.12.006.
- [56] REN J T, LIU X J, FANG C Y, *et al.* Multiplex genome editing to generate universal CAR T cells resistant to PD1 inhibition[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9): 2255-2266[2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5413401/>. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1300.
- [57] TABBEKH M, MOKRANI-HAMMANI M, BISMUTH G, *et al.* T-cell modulatory properties of CD5 and its role in antitumor immune responses[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(1): e22841 [2022-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3583937/>. DOI:10.4161/onci.22841.
- [58] RURIK J G, TOMBÁČZ I, YADEGARI A, *et al.* CAR T cells produced *in vivo* to treat cardiac injury[J]. *Science*, 2022, 375 (6576): 91-96. DOI:10.1126/science.abm0594.

[收稿日期] 2022-04-26

[修回日期] 2022-05-10

[本文编辑] 党瑞山,沈志超