

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.10.012

## 以 GPC3 为靶点的肝细胞癌免疫疗法的研究进展

### Research progress on GPC3-targeted immunotherapy for hepatocellular carcinoma

王姿 综述;涂建成 审阅(武汉大学中南医院 检验科基因诊断中心,湖北 武汉 430071)

**[摘要]** 近年来肿瘤免疫治疗技术的不断成熟和应用,在多种类型肿瘤的治疗中取得了较好的临床效果,肝细胞癌(HCC)的免疫治疗也成为最有前景的治疗方式之一。研究发现,磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(GPC3)在 HCC 组织中特异性高表达,其通过糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定于细胞膜表面,参与 HCC 发生发展过程中各种信号通路的调控,可作为特异性肿瘤相关标志物。以 GPC3 为靶点的单克隆抗体、双特异性抗体、CAR-T 细胞、免疫毒素及相关联合治疗在临床前研究及临床试验中均展现出良好的应用潜力。因此,靶向 GPC3 的免疫疗法可能成为未来 HCC 治疗的主要方向之一,全面了解相关研究的现状对 HCC 治疗的发展至关重要。本文综述了以 GPC3 为靶点的免疫疗法在 HCC 中的作用机制的研究进展及目前仍存在的问题,并对未来进行展望。

**[关键词]** 肝细胞癌(HCC);磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(GPC3);免疫疗法;靶向治疗

**[中图分类号]** R735.7; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)10-0950-06

原发性肝癌是全球第六大最常见的癌症,也是导致癌症相关死亡的第三大原因,最常见的组织学类型是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC),其起病隐匿,早期无明显症状,被确诊时大多处于中晚期,首次诊断时只有不到 30% 的 HCC 患者适合接受根治性手术治疗,大部分 HCC 患者需要通过抗肿瘤药物治疗以控制疾病进展、延长患者的生存时间,肿瘤的免疫治疗在 HCC 的治疗方面展现出巨大的潜力<sup>[1-3]</sup>。因此,免疫治疗靶点的确定成为近年来 HCC 治疗相关研究的热点。磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3(glypican-3, GPC3)被认为是 HCC 有前景的治疗靶点之一<sup>[4]</sup>。GPC3 属于硫酸乙酰肝素糖蛋白(heparan sulfate proteoglycan, HSPG)家族中的一员,分子质量约为 70 000,通过糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidyl inositol, GPI)锚定于细胞膜表面。研究<sup>[5]</sup>发现,GPC3 在 HCC 组织中高表达,可作为特异性组织标志物,且与预后密切相关。GPC3 通过多个信号通路参与 HCC 发生发展过程,如刺激 Wnt 信号通路<sup>[6-8]</sup>、与生长因子相互作用<sup>[9-10]</sup>、刺激巨噬细胞的募集<sup>[11]</sup>和促进上皮-间充质转化等<sup>[12-13]</sup>。基于以 GPC3 为靶点的免疫疗法已成为 HCC 治疗的研究热点。本文综述了近年来包括抗体药物、细胞疗法、免疫毒素等 GPC3 靶向治疗在 HCC 中的研究进展,旨在为 HCC 的免疫治疗研究提供参考。

#### 1 GPC3 抗体药物治疗 HCC

抗体药物通过人工合成抗体,基于抗原抗体的特异性结合诱导抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(ADCC)、补体依赖的细胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC)或抗体直接诱导细胞凋

亡,从而杀伤肿瘤细胞。主要包括 GPC3 单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)和双特异性抗体(bispecific antibody, BsAb)。

##### 1.1 GPC3 mAb

1.1.1 GC33 和 YP7 GC33 是首个靶向 GPC3 的人源化 mAb,识别 C 末端区域(aa 510-560),通过激活 ADCC 发挥抗肿瘤作用,能显著抑制裸鼠肝癌移植瘤的生长<sup>[14-15]</sup>。I 期临床试验结果<sup>[16-17]</sup>显示,GC33 对晚期 HCC 有潜在抗肿瘤活性,且耐受性良好(2.5~20 mg/kg/wk)、无剂量限制性毒性。但 II 期临床试验结果<sup>[18]</sup>并不理想,与安慰剂相比,GC33 对既往系统治疗失败的晚期 HCC 患者的总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)并无显著改善作用,与索拉非尼联合治疗晚期 HCC<sup>[19]</sup>也没有显著提高疗效。高暴露 GC33 治疗具有高亲和力 FcγR3a 同种异型或 GPC3 和/或 FcγR3a 高表达水平的患者可能会延长 PFS,目前中外制药已重启 GC33 的 I 期临床研究。由于缺乏高亲和力单抗,研究者<sup>[20-21]</sup>采用多肽免疫和流式细胞术联合筛选出 YP7,其识别区域与人源化 GC33 结合部位重叠、敏感性高、与 GPC3 具有高亲和力,可以检测到低表达的 GPC3,对裸鼠肝癌移植瘤具有较强的抗肿瘤效果。

1.1.2 32A9 和 HN3 32A9 和 HN3 分别与 GPC3 核心蛋白的中间区域和 N 端 Wnt 结合区具有高亲和力,均能显著抑制 HCC 细胞增殖和异种移植瘤的生长。32A9 结合位点位于 Wnt 结合区之外,靠近 HS 链连接

**[基金项目]** 武汉大学中南医院科技创新种子基金(No. ZNPY2018067)

**[作者简介]** 王姿(1998—),女,硕士生,主要从事肝癌发生发展的分子机制及早期诊断标志物的研究,E-mail: wswangzi2021@163.com

**[通信作者]** 涂建成,E-mail: jianchengtu@whu.edu.cn

位点,对 Wnt 信号激活无明显抑制作用<sup>[22]</sup>。HN3 则能特异性阻断 Wnt 信号,其抗肿瘤作用可能是通过 YAP 信号使细胞停滞在 G1 期<sup>[21]</sup>。

**1.1.3 HS20** HS20 特异靶向 GPC3 HS 链上的 Wnt 结合序列,通过阻断 GPC3 与 Wnt3a 及肝细胞生长因子之间的相互作用,最终抑制 HCC 细胞增殖与迁移,在小鼠体内表现为较强的抗肿瘤活性,且未观察到不良反应<sup>[23]</sup>。

由于内源性免疫抑制或药物代谢动力学等原因,靶向 GPC3 的 mAb 作为 HCC 治疗方法时反应率低,单一的 GPC3 抗体并不能完全消除肿瘤<sup>[24]</sup>。研究结果<sup>[25]</sup>发现,BsAb 能同时识别两种抗原,提高了抗体药物治疗的靶向性、安全性和有效性,成本低且效果明显优于两种单抗联合治疗,在临床前实验中表现良好。

## 1.2 GPC3 BsAb

BsAb 有两条抗原结合臂,其中一条与靶抗原结合,另一条可以与效应细胞上的标志性抗原结合,激活效应细胞重定向到肿瘤组织而杀伤肿瘤细胞<sup>[26]</sup>。ERY974 是一种人源化 IgG4 BsAb,具有较长的循环半衰期,可双特异性结合 GPC3 和 CD3,使 T 细胞聚集到肿瘤中,对多种 GPC3<sup>+</sup>肿瘤具有强大的抗肿瘤功效,对于免疫原性较低而难以利用免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)治疗的肿瘤具有重要意义<sup>[27-28]</sup>,目前处于 I 期临床试验阶段。

抗原结合臂也可以与别的肿瘤相关抗原结合,如 CD47 是一种普遍表达的固有免疫检查点,可与巨噬细胞上的受体信号调节蛋白  $\alpha$  相互作用抑制其吞噬作用,使肿瘤细胞逃避免疫监视。GPC3/CD47 BsAb 能优先识别表达双抗原的细胞,通过增强固有免疫反应发挥抗肿瘤作用,因其毒性较低且血清半衰期延长,比单独使用抗 CD47 抗体或抗 CD47 和抗 GPC3 抗体联合治疗更有效<sup>[29]</sup>。

另外,由于 BsAb 存在抗体聚集、结构不稳定等问题,开发了一种特殊结构的 BsAb,由 2 个不同的单链可变片段(single chain Fv, scFv)连接组成,其分子质量小能够穿透组织、稳定性好和结构简单易于生产,在肿瘤治疗方面表现出巨大的潜力<sup>[30]</sup>。已被证明 GPC3/CD3 双特异性 T 细胞衔接子(bispecific T-cell engager, BiTE)在体外均能有效地杀伤 GPC3<sup>+</sup>肝癌细胞,但由于低分子质量和快速肾清除,BiTE 的循环半衰期较短,可联合光遗传学通过细菌远红光系统驱动 BiTE 的表达,但仍有待进一步研究<sup>[31-32]</sup>。

## 2 细胞疗法治疗 HCC

细胞疗法又称过继细胞免疫疗法,将来源于患

者体内的免疫细胞经过体外培养,使其数量扩增或增加靶向性杀伤功能,再重新输回患者体内,以达到清除肿瘤的目的。主要包括 CAR-T 细胞疗法、NK 细胞疗法、T 细胞受体工程化 T (T-cell receptor engineered T, TCR-T) 细胞疗法等几大类。

### 2.1 CAR-T 细胞疗法

CAR-T 细胞疗法通过基因修饰技术,将带有抗原识别结构域及 T 细胞激活信号的遗传物质转入 T 细胞,特异性识别并杀伤肿瘤细胞<sup>[33]</sup>。目前有多个 GPC3 CAR-T 细胞项目处于 I/II 期临床试验阶段。

**2.1.1 GPC3 CAR-T 细胞** 研究结果<sup>[34-36]</sup>表明,GPC3 靶向 CAR-T 细胞在体内外均能有效杀死 GPC3<sup>+</sup> HCC 细胞,其细胞毒性与 GPC3 表达水平相关。科济药业的 CT011 是全球首个靶向 GPC3 CAR-T 细胞治疗 HCC 的药物, I 期临床试验初步结果<sup>[37]</sup>显示,其在晚期 GPC3<sup>+</sup> HCC 患者( $n=13$ )中表现出一定的抗肿瘤活性和安全性。

**2.1.2 结构优化的 GPC3 CAR-T 细胞** 为提高 CAR-T 细胞的安全性及抗肿瘤作用,对其进行结构优化:(1)利用促炎性细胞因子对 CAR 结构进行基因修饰。研究<sup>[38]</sup>证明,IL-7 和 CCL19 共表达能增强 CAR-T 细胞的扩增和迁移能力,改善肿瘤组织中的 T 细胞浸润和 CAR-T 细胞存活,显著增强其抗肿瘤能力。I 期临床试验(NCT03198546)结果<sup>[39]</sup>显示, GPC3-7 $\times$ 19 CAR-T 细胞疗法 30 d 后完全消除晚期 HCC 患者的肿瘤,但纳入患者数目( $n=4$ )过少,仍需进一步验证。科济药业的 CT017,共表达 IL-7 和 CCL21,改善了 CAR-T 细胞的存活与浸润,并抑制肿瘤血管生成,抗肿瘤作用优于 GPC3-7 $\times$ 19 CAR-T 细胞,且不需要淋巴细胞清除化疗,对 T 淋巴细胞受损患者及不能耐受淋巴细胞清除化疗的患者具有重要意义,已进入临床 I 期阶段<sup>[39-40]</sup>。IL-12、IL-15、IL-21 等也表现为相似的结果<sup>[41-42]</sup>。(2)对免疫检查点进行基因编辑。通过 CRISPR/Cas9 破坏 CAR-T 细胞 PD-1 基因表达,可改善 GPC3 CAR-T 细胞的持久性和浸润性,增强其抗肿瘤活性<sup>[43]</sup>。(3)其他结构优化。如 G3-CAR-ori2,在二代 CAR-T 细胞中 4-1BB 和 CD3 $\zeta$  之后插入 Ori2,显著改善其增殖和持久性<sup>[44]</sup>。另外,有研究结果<sup>[45]</sup>发现,与高亲和力 CAR-T 细胞相比,低亲和力 8F8-BBz CAR-T 细胞对于肿瘤细胞杀伤作用相当,但扩增和持久性更强,具有更大的治疗潜力。

### 2.2 其他细胞疗法

其他细胞疗法逐渐展现出其发展潜力。CAR V $\delta$ 1 T 细胞对不同 GPC3 表达水平的 HCC 细胞均表现出强大的增殖、细胞因子产生和细胞毒性,受 sGPC 影响小,在 HepG2 小鼠模型中能有效控制肿瘤而不引



起移植抗宿主病,与IL-15共表达时抗肿瘤作用明显增强且没有毒性<sup>[46]</sup>;NK-92/9.28.z细胞分泌各种细胞因子,但不产生IL-1 $\beta$ 、IL-2和IL-6,具有一定的安全性,在体外可特异性地杀伤GPC3<sup>+</sup>HCC细胞,抗肿瘤活性强且不受sGPC3、TGF- $\beta$ 及缺氧等因素的影响<sup>[47]</sup>。

细胞疗法给HCC患者治疗带来了希望,但仍有一些问题有待解决,如T细胞归巢、肿瘤免疫抑制微环境等可能会抑制CAR-T细胞活性,同时CAR-T细胞可能会导致许多副作用发生,包括肿瘤溶解综合征、细胞因子释放综合征及肿瘤外非特异性杀伤作用等。

### 3 免疫毒素治疗HCC

免疫毒素通过化学交联或基因工程结合毒素蛋白和抗体,内化到肿瘤细胞后毒素部分与抗体片段分离,通过抗体诱导的细胞信号失活和毒素诱导的蛋白质合成抑制来杀灭肿瘤细胞<sup>[48-49]</sup>,主要包括基于假单胞菌外毒素(pseudomonas exotoxin, PE)的免疫毒素和基于白喉毒素(diphtheria toxoid, DT)的免疫毒素。

#### 3.1 基于PE的免疫毒素

PE是免疫毒素中常见的毒素片段。第一代免疫毒素由PE38组成,GAO等<sup>[50]</sup>构建的免疫毒素HN3-PE38和YP7-PE38,在体内外实验中均能有效地抑制肝癌细胞的生长,但存在脱靶毒性并诱导产生中和抗体,临床应用价值不大。第二代免疫毒素由PE24组成,WANG等<sup>[48]</sup>构建了HN3-mPE24,能导致HCC消退并显著延长小鼠存活时间,与第一代免疫毒素HN3-PE38相比,非特异性细胞毒性减少、副作用小、耐受剂量显著提高(5 mg/kg)。同时,由于分子小穿透能力强,HN3-mPE24可能适用于放疗、化疗和手术后的后续治疗。LIU等<sup>[22]</sup>将32A9 scFv与去免疫的截短PE(mPE24)融合构建32A9-mPE24,能特异性抑制GPC3<sup>+</sup>HCC细胞的生长,IC<sub>50</sub>值为0.68 nmol/L。

#### 3.2 基于DT的免疫毒素

将没有结合结构域的截短白喉毒素(DT389)与人源化YP7的scFv融合构建DT389-(GGGGG)2-YP7,对GPC3<sup>+</sup>HCC细胞具有毒性作用,能诱导细胞形态改变、细胞内活性氧增加、细胞凋亡及坏死、细胞周期阻滞并抑制细胞转移<sup>[51]</sup>。

免疫毒素在对化疗耐药的癌细胞中也能诱导有效的细胞毒性,抗肿瘤效力强大,具有较大的临床意义<sup>[48]</sup>。但免疫毒素对实体瘤的浸润性较差,且其自身免疫原性可能诱导体内免疫反应,导致血管渗出综合征等不良反应;此外,免疫毒素相对较短的半衰期

会限制其临床应用。研究结果<sup>[52]</sup>发现,添加白蛋白结合域(albumin-binding domain, ABD)可延长免疫毒素半衰期,如HN3-ABD-T20,其血清半衰期增加45倍、治疗需求量减少10倍、抗原性降低、亲和力高、细胞毒性作用强等,在HCC治疗临床应用方面有很大的潜力。

## 4 联合治疗在HCC治疗中的应用

目前大多数治疗方法单独使用并不能完全消除HCC,且研发应用过程中存在各种障碍与不足,如循环半衰期短、结构不稳定、非特异性杀伤作用、免疫抑制的肿瘤微环境、各种不良反应等,而不同治疗方法联合应用可能增加抗肿瘤的效果,同时避免不必要的毒副作用,具有一定的可行性和有效性,可能是未来HCC治疗的主要发展方向。主要包括与ICI、多靶点激酶抑制剂联合使用等。

### 4.1 GPC3靶向免疫疗法与ICI联合

4.1.1 抗体药物与ICI联合 GPC3抗体与ICI联合治疗时可增加PD-L1<sup>+</sup>免疫细胞(如巨噬细胞和多核巨细胞)浸润,在小鼠HCC模型中,抗小鼠GPC3单抗(mGC33)联合阿替利珠单抗比单独使用抗体更有效,其I期临床试验结果显示药物耐受性良好,能有效减少晚期HCC患者肿瘤生长<sup>[53]</sup>。中外制药启动了ERY974与阿替利珠单抗及贝伐珠单抗联合治疗晚期或转移性HCC患者的研究,已经进入临床I期试验阶段,目前正在招募患者。

4.1.2 CAR-T细胞与ICI联合 研究结果<sup>[54]</sup>发现,靶向PD-L1的CAR(B2)T细胞与靶向GPC3的CAR-T细胞联合使用时表现为协同作用,在体内外实验中其抗肿瘤效果均优于单一抗原靶向的CAR-T细胞,可能是通过清除GPC3 CAR-T细胞诱导的肿瘤细胞PD-L1<sup>+</sup>表达,抑制免疫逃逸,从而提高GPC3 CAR-T细胞治疗效果。

### 4.2 GPC3靶向免疫疗法与多靶点激酶抑制剂联合

4.2.1 抗体药物与多靶点激酶抑制剂联合 有研究者<sup>[55]</sup>构建了人源化GPC3单抗(hGC33)修饰和索拉菲尼负载的纳米颗粒(hGC33-SFB-NP),能特异性靶向GPC3<sup>+</sup>肝癌细胞,通过阻断Ras/Raf/MAPK通路和Wnt通路协同抑制HCC进展,提高荷瘤小鼠的存活率。

4.2.2 CAR-T细胞与多靶点激酶抑制剂联合 在HCC小鼠模型中,索拉菲尼与GPC3 CAR-T细胞联用表现为协同效应,可促进肿瘤相关巨噬细胞中IL-12的分泌和肿瘤细胞凋亡,从而增强GPC3 CAR-T细胞的抗肿瘤作用<sup>[56]</sup>。4G GPC3 CAR-T细胞联合络氨酸激酶抑制剂能更有效地杀死GPC3<sup>+</sup>HCC细胞,

I 期临床(NCT03980288)结果<sup>[57]</sup>显示具有可控的安全性及潜在的抗肿瘤活性。

## 5 结 语

目前,大部分 HCC 患者确诊时为中晚期,可选择的治疗方法有限,治疗效果也不佳,容易复发和转移,HCC 患者 5 年 OS 率一直很低,亟需寻找新的治疗方法。虽然 GPC3 在 HCC 发生发展中的分子作用机制仍有待深入研究,但其在 HCC 诊断、治疗及预后判定中,尤其是作为 HCC 免疫治疗潜在靶点的作用,展示出良好的前景。多种基于 GPC3 的 HCC 免疫治疗方法,在体内外研究中均表现出极大的优势,能通过各种途径有效杀灭肿瘤细胞,抑制 HCC 的发生发展。但这些研究大部分仍处于临床前研究阶段,需要进行临床验证,不同治疗方法在治疗反应率和安全性等方面也存在诸多问题,依然需要进一步完善。因此,对于药物本身,未来需要继续对其进行结构优化以增长半衰期,增加实体瘤浸润性等;对于联合治疗,可以通过调整药物联合、药物剂量、给药时间、给药方式等进行方案优化,以开发更安全有效的 GPC3 靶向疗法。此外,对于 HCC 患者,可以通过构建临床预测模型进行患者风险分层,从而选择合适的免疫治疗方法,实现个体化治疗。相信随着研究的不断深入和技术的不断进步,以 GPC3 为靶点的免疫疗法将实现巨大的发展,为 HCC 治疗提供新的希望。

## [参 考 文 献]

- [1] LLOVET J M, CASTET F, HEIKENWALDER M, *et al.* Immunotherapies for hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(3): 151-172. DOI:10.1038/s41571-021-00573-2.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. *中国实用外科杂志*, 2022, 42(3): 241-273. DOI:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2022.03.01.
- [3] HUANG S L, WANG Y M, WANG Q Y, *et al.* Mechanisms and clinical trials of hepatocellular carcinoma immunotherapy[J/OL]. *Front Genet*, 2021, 12: 691391[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8296838/>. DOI:10.3389/fgene.2021.691391.
- [4] ZHENG X F, LIU X, LEI Y N, *et al.* Glypican-3: a novel and promising target for the treatment of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 824208[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8889910/>. DOI:10.3389/fonc.2022.824208.
- [5] HO M, KIM H. Glypican-3: a new target for cancer immunotherapy[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(3): 333-338. DOI:10.1016/j.ejca.2010.10.024.
- [6] KOLLURI A, HO M. The role of glypican-3 in regulating Wnt, YAP, and hedgehog in liver cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 708. DOI:10.3389/fonc.2019.00708.
- [7] CAPURRO M I, XIANG Y Y, LOBE C, *et al.* Glypican-3 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by stimulating canonical Wnt signaling[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(14): 6245-6254. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-4244.
- [8] LI N, WEI L W, LIU X Y, *et al.* A frizzled-like cysteine-rich domain in glypican-3 mediates Wnt binding and regulates hepatocellular carcinoma tumor growth in mice[J]. *Hepatology*, 2019, 70(4): 1231-1245. DOI:10.1002/hep.30646.
- [9] MIDORIKAWA Y, ISHIKAWA S, IWANARI H, *et al.* Glypican-3, overexpressed in hepatocellular carcinoma, modulates FGF2 and BMP-7 signaling[J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(4): 455-465. DOI: 10.1002/ijc.10856.
- [10] GAO W, KIM H, HO M. Human monoclonal antibody targeting the heparan sulfate chains of glypican-3 inhibits HGF-mediated migration and motility of hepatocellular carcinoma cells[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137664[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4557904/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0137664.
- [11] TAKAI H, ASHIHARA M, ISHIGURO T, *et al.* Involvement of glypican-3 in the recruitment of M2-polarized tumor-associated macrophages in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(24): 2329-2338. DOI:10.4161/cbt.8.24.9985.
- [12] ZHOU F B, SHANG W T, YU X L, *et al.* Glypican-3: a promising biomarker for hepatocellular carcinoma diagnosis and treatment[J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(2): 741-767. DOI:10.1002/med.21455.
- [13] WU Y L, LIU H, WENG H L, *et al.* Glypican-3 promotes epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells through ERK signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(3): 1275-1285. DOI:10.3892/ijo.2015.2827.
- [14] YU J P, MA Q, ZHANG B, *et al.* Clinical application of specific antibody against glypican-3 for hepatocellular carcinoma diagnosis [J]. *Sci China Life Sci*, 2013, 56(3): 234-239. DOI:10.1007/s11427-013-4451-y.
- [15] NAKANO K, ORITA T, NEZU J, *et al.* Anti-glypican 3 antibodies cause ADCC against human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378(2): 279-284. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.11.033.
- [16] ZHU A X, GOLD P J, EL-KHOUEIRY A B, *et al.* First-in-man phase I study of GC33, a novel recombinant humanized antibody against glypican-3, in patients with advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(4): 920-928. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-12-2616.
- [17] IKEDA M, OHKAWA S, OKUSAKA T, *et al.* Japanese phase I study of GC33, a humanized antibody against glypican-3 for advanced hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Cancer Sci*, 2014, 105(4): 455-462[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4317809/>. DOI:10.1111/cas.12368.
- [18] ABOU-ALFA G K, PUIG O, DANIELE B, *et al.* Randomized phase II placebo controlled study of codrituzumab in previously treated patients with advanced hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2016, 65(2): 289-295. DOI:10.1016/j.jhep.2016.04.004.
- [19] ABOU-ALFA G K, YEN C J, HSU C H, *et al.* Phase I b study of codrituzumab in combination with sorafenib in patients with non-curable advanced hepatocellular carcinoma (HCC)[J/OL]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 79(2): 421-429[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5548107/>. DOI: 10.1007/s00280-017-3241-9.
- [20] PHUNG Y, GAO W, MAN Y G, *et al.* High-affinity monoclonal antibodies to cell surface tumor antigen glypican-3 generated

- through a combination of peptide immunization and flow cytometry screening[J/OL]. *MAbs*, 2012, 4(5): 592-599[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3499300/>. DOI: 10.4161/mabs.20933.
- [21] HANAOKA H, NAGAYA T, SATO K, *et al* Glypican-3 targeted human heavy chain antibody as a drug carrier for hepatocellular carcinoma therapy[J/OL]. *Mol Pharm*, 2015, 12(6): 2151-2157[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7720675/>. DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00132.
- [22] LIU X Y, GAO F, JIANG L W, *et al*. 32A9, a novel human antibody for designing an immunotoxin and CAR-T cells against glypican-3 in hepatocellular carcinoma[J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 295. DOI:10.1186/s12967-020-02462-1.
- [23] GAO W, KIM H, FENG M Q, *et al*. Inactivation of Wnt signaling by a human antibody that recognizes the heparan sulfate chains of glypican-3 for liver cancer therapy[J/OL]. *Hepatology*, 2014, 60(2): 576-587[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4083010/>. DOI:10.1002/hep.26996.
- [24] MAKKOUK A, YANG X C, BARCA T, *et al*. Off-the-shelf Vδ1 gamma delta T cells engineered with glypican-3 (GPC-3)-specific chimeric antigen receptor (CAR) and soluble IL-15 display robust antitumor efficacy against hepatocellular carcinoma[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(12): e003441. DOI: 10.1136/jitc-2021-003441.
- [25] FAN G W, WANG Z J, HAO M J, *et al*. Bispecific antibodies and their applications[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8: 130. DOI:10.1186/s13045-015-0227-0.
- [26] CHEN X, CHEN Y M, LIANG R, *et al*. Combination therapy of hepatocellular carcinoma by GPC3-targeted bispecific antibody and irinotecan is potent in suppressing tumor growth in mice[J/OL]. *Mol Cancer Ther*, 2022, 21(1): 149-158[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8742776/>. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-20-1025.
- [27] WAAIJER S J, GIESEN D, ISHIGURO T, *et al*. Preclinical PET imaging of bispecific antibody ERY974 targeting CD3 and glypican 3 reveals that tumor uptake correlates to T cell infiltrate[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000548[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7206965/>. DOI: 10.1136/jitc-2020-000548.
- [28] ISHIGURO T, SANO Y, KOMATSU S I, *et al*. An anti-glypican 3/CD3 bispecific T cell-redirecting antibody for treatment of solid tumors[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(410): eaal4291. DOI:10.1126/scitranslmed.aal4291.
- [29] DU K X, LI Y L, LIU J, *et al*. A bispecific antibody targeting GPC3 and CD47 induced enhanced antitumor efficacy against dual antigen-expressing HCC[J/OL]. *Mol Ther*, 2021, 29(4): 1572-1584[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8058486/>. DOI: 10.1016/j.yimthe.2021.01.006.
- [30] BI Y Y, JIANG H, WANG P, *et al*. Treatment of hepatocellular carcinoma with a GPC3-targeted bispecific T cell engager[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(32): 52866-52876[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5581077/>. DOI: 10.18632/oncotarget.17905.
- [31] YU L, YANG X, HUANG N, *et al*. A novel targeted GPC3/CD3 bispecific antibody for the treatment hepatocellular carcinoma [J/OL]. *Cancer Biol Ther*, 2020, 21(7): 597-603[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7515540/>. DOI:10.1080/15384047.2020.1743158.
- [32] ZHANG C L, SHI Y J, WU L J, *et al*. Far-red light triggered production of bispecific T cell engagers (BiTEs) from engineered cells for antitumor application[J]. *ACS Synth Biol*, 2022, 11(2): 888-899. DOI:10.1021/acssynbio.1c00523.
- [33] CHAKRABORTY E, SARKAR D. Emerging therapies for hepatocellular carcinoma (HCC) [J]. *Cancers*, 2022, 14(11): 2798. DOI: 10.3390/cancers14112798.
- [34] JIANG Z W, JIANG X F, CHEN S M, *et al*. Anti-GPC3-CAR T cells suppress the growth of tumor cells in patient-derived xenografts of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Front Immunol*, 2016, 7: 690[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5225101/>. DOI:10.3389/fimmu.2016.00690.
- [35] GAO H P, LI K S, TU H, *et al*. Development of T cells redirected to glypican-3 for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6418-6428. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1170.
- [36] LI D, LI N, ZHANG Y F, *et al*. Persistent polyfunctional chimeric antigen receptor T cells that target glypican 3 eliminate orthotopic hepatocellular carcinomas in mice[J/OL]. *Gastroenterology*, 2020, 158(8): 2250-2265.e20[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7282931/>. DOI:10.1053/j.gastro.2020.02.011.
- [37] SHI D H, SHI Y P, KASEB A O, *et al*. Chimeric antigen receptor-glypican-3 T-cell therapy for advanced hepatocellular carcinoma: results of phase I trials[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(15): 3979-3989. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-3259.
- [38] ADACHI K, KANO Y, NAGAI T, *et al*. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(4): 346-351. DOI:10.1038/nbt.4086.
- [39] PANG N Z, SHI J X, QIN L, *et al*. IL-7 and CCL19-secreting CAR-T cell therapy for tumors with positive glypican-3 or mesothelin [J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 118[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8323212/>. DOI: 10.1186/s13045-021-01128-9.
- [40] LUO H, SU J W, SUN R X, *et al*. Coexpression of IL7 and CCL21 increases efficacy of CAR-T cells in solid tumors without requiring preconditioned lymphodepletion[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(20): 5494-5505. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-20-0777.
- [41] LIU Y, DI S M, SHI B Z, *et al*. Armored inducible expression of IL-12 enhances antitumor activity of glypican-3-targeted chimeric antigen receptor-engineered T cells in hepatocellular carcinoma[J]. *J Immunol*, 2019, 203(1): 198-207. DOI:10.4049/jimmunol.1800033.
- [42] BATRA S A, RATHI P, GUO L J, *et al*. Glypican-3-specific CAR T cells coexpressing IL15 and IL21 have superior expansion and antitumor activity against hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(3): 309-320. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0293.
- [43] 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[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6174208/>. DOI:10.3389/fphar.2018.01118.



- [44] ZHAO Z W, GUO W Y, FANG S J, *et al.* An armored GPC3-directed CAR-T for refractory or relapsed hepatocellular carcinoma in China: a phase I trial[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(15\_suppl): 4095[2022-05-16]. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15\\_suppl.4095](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15_suppl.4095). DOI:10.1200/jco.2021.39.15\_suppl.4095.
- [45] CARABALLO GALVA L D, JIANG X T, HUSSEIN M S, *et al.* Novel low-avidity glypican-3 specific CARTs resist exhaustion and mediate durable antitumor effects against HCC[J]. *Hepatology*, 2022, 76(2): 330-344. DOI:10.1002/hep.32279.
- [46] MAKKOUK A, YANG X C, BARCA T, *et al.* Allogeneic V $\delta$ 1 gamma delta T cells engineered with glypican-3 (GPC3)-specific CAR expressing soluble IL-15 have enhanced antitumor efficacy against hepatocellular carcinoma in preclinical models[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(15\_suppl): e14511[2022-05-16]. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15\\_suppl.e14511](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15_suppl.e14511). DOI: 10.1200/jco.2021.39.15\_suppl.e14511.
- [47] YU M, LUO H, FAN M L, *et al.* Development of GPC3-specific chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells for the treatment of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Mol Ther*, 2018, 26(2): 366-378[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5835122/>. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.12.012.
- [48] WANG C G, GAO W, FENG M Q, *et al.* Construction of an immunotoxin, HN3-mPE24, targeting glypican-3 for liver cancer therapy[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(20): 32450-32460[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5464801/>. DOI: 10.18632/oncotarget.10592.
- [49] FITZGERALD D J, KREITMAN R, WILSON W, *et al.* Recombinant immunotoxins for treating cancer[J]. *Int J Med Microbiol*, 2004, 293(7/8): 577-582. DOI:10.1078/1438-4221-00302.
- [50] GAO W, TANG Z W, ZHANG Y F, *et al.* Immunotoxin targeting glypican-3 regresses liver cancer *via* dual inhibition of Wnt signalling and protein synthesis[J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6536[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4357278/>. DOI: 10.1038/ncomms7536.
- [51] HASHEMI YEGANEH H, HEIAT M, KIELISZEK M, *et al.* DT389-YP7, a recombinant immunotoxin against glypican-3 that inhibits hepatocellular cancer cells: an *in vitro* study[J]. *Toxins*, 2021, 13(11): 749. DOI:10.3390/toxins13110749.
- [52] FLEMING B D, URBAN D J, HALL M D, *et al.* Engineered anti-GPC3 immunotoxin, HN3-ABD-T20, produces regression in mouse liver cancer xenografts through prolonged serum retention[J/OL]. *Hepatology*, 2020, 71(5): 1696-1711[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7069773/>. DOI:10.1002/hep.30949.
- [53] CHARNEAU J, SUZUKI T, SHIMOMURA M, *et al.* Peptide-based vaccines for hepatocellular carcinoma: a review of recent advances [J/OL]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2021, 8: 1035-1054[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8424432/>. DOI: 10.2147/JHC.S291558.
- [54] LI D, ENGLISH H, HONG J, *et al.* A novel PD-L1-targeted shark V<sub>NAR</sub> single-domain-based CAR-T cell strategy for treating breast cancer and liver cancer[J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2022, 24: 849-863[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8917269/>. DOI: 10.1016/j.omto.2022.02.015.
- [55] SHEN J, CAI W P, MA Y F, *et al.* hGC33-modified and sorafenib-loaded nanoparticles have a synergistic anti-hepatoma effect by inhibiting Wnt signaling pathway[J/OL]. *Nanoscale Res Lett*, 2020, 15(1): 220[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7691417/>. DOI:10.1186/s11671-020-03451-5.
- [56] WU X Q, LUO H, SHI B Z, *et al.* Combined antitumor effects of sorafenib and GPC3-CAR T cells in mouse models of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Mol Ther*, 2019, 27(8): 1483-1494[2022-05-16]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6697347/>. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.04.020.
- [57] FANG W J, FU Q H, ZHAO Q W, *et al.* Phase I trial of fourth-generation chimeric antigen receptor T-cells targeting glypican-3 for advanced hepatocellular carcinoma[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(15\_suppl): 4088[2022-05-16]. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15\\_suppl.4088](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15_suppl.4088). DOI:10.1200/jco.2021.39.15\_suppl.4088.

[收稿日期] 2022-05-18

[修回日期] 2022-08-23

[本文编辑] 党瑞山