

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.07.001

· 专家论坛 ·

## CAR-T 细胞体内外扩增方法的优化策略

潘心怡,任政乾<sup>△</sup>,王欣玥,王婷婷(南京大学医学院,江苏 南京 210000)

**王婷婷** 医学博士、教授、博士生导师,现任南京大学医学院副院长,兼任医药生物技术国家重点实验室课题组长、世中联整合肿瘤专业委员会副会长、中国抗癌协会胃肠病学专业委员会常务委员等。长期从事肿瘤免疫的基础及转化研究,致力于肠道微生态与肿瘤发生的研究。研究成果主要发表在 *Immunity*, *EMBO J*, *Adv Funct Mater*, *PLoS Pathog*, *Oncogene* 等国际知名的 SCI 杂志上,其中以第一作者或通信作者身份发表 SCI 论文 29 篇。参与编写肿瘤学著作 2 部。获江苏省科学技术二等奖、中华医学科技奖二等奖和江苏医学科技奖二等奖等,国家授权专利一项。主持多项国家自然科学基金面上项目,荣获教育部“长江学者”奖励计划青年学者、江苏省杰青获得者,江苏省六大人才高峰高层次人才称号。

**[摘要]** 嵌合抗原受体基因修饰 T (CAR-T) 细胞免疫治疗被认为是最有前景的肿瘤治疗方法之一,效应 CAR-T 细胞的数量是决定 CAR-T 细胞疗法治疗效果的关键因素。CAR-T 细胞的体外扩增耗时耗力,回输体内后,CAR-T 细胞大量耗竭且难以浸润实体瘤,导致能有效抑制实体瘤的 CAR-T 细胞数量大幅下降。目前,CAR-T 细胞的扩增方法在提高扩增特异性和治疗安全性等方面均存在问题,为 CAR-T 细胞疗法的临床转化造成困难。近年来,新型免疫激动剂及其下游信号的发现为 CAR-T 细胞扩增方案提供了更多选择,免疫激动剂给药方式的更新迭代进一步提高了其在体内扩增 CAR-T 细胞的安全性。本文分析了目前扩增 CAR-T 细胞面临的挑战,系统阐述了近年来在体内外扩增 CAR-T 细胞的新策略,为 CAR-T 细胞疗法的疗效和产能优化提供了新思路。

**[关键词]** 肿瘤;实体瘤;免疫治疗;CAR-T 细胞疗法;特异性扩增

**[中图分类号]** R392.12;R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)07-0647-08

## Optimization strategies for the amplification of CAR-T cells *in vitro* and *in vivo*

PAN Xinyi, REN Zhengqian<sup>△</sup>, WANG Xinyue, WANG Tingting (Medical School of Nanjing University, Nanjing 210000, Jiangsu, China)

**[Abstract]** Chimeric antigen receptor gene-modified T (CAR-T) cell immunotherapy is considered as one of the most promising tumor treatments. The number of effector CAR-T cells is a key factor in determining the therapeutic effect of CAR-T cell therapy. The expansion of CAR-T cells *in vitro* is time and energy-consuming. After transfusion, it's difficult for CAR-T cells to infiltrate into solid tumors, resulting in a significant decrease in the number of CAR-T cells that can effectively inhibit solid tumors. Currently, the amplification of CAR-T cells has problems in enhancing amplification specificity and treatment safety, which hinders the clinical transformation of CAR-T cell therapy. In recent years, achievements in new immunity agonist and their downstream signals have provided more options for CAR-T amplification, and the novel administration methods of immunity agonist have further improved the safety of CAR-T amplification *in vivo*. This review analyzes the current challenges in CAR-T cell amplification, and systematically expounds the new strategies of CAR-T cell amplification *in vitro* and *in vivo* in recent years, providing new thoughts for the efficacy and capacity optimization of CAR-T cell therapy.

**[Key words]** tumor; solid tumor; immunotherapy; chimeric antigen receptor gene-modified T (CAR-T) cell therapy; specific amplification

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(7): 647-654. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.07.001]

嵌合抗原受体基因修饰 T 细胞(chimeric antigen receptor gene-modified T cell, CAR-T 细胞)疗法是对自体 T 细胞进行嵌合抗原受体(CAR)基因改造<sup>[1]</sup>,使 CAR-T 细胞特异性识别表达 CAR 靶点的靶细胞。CAR-T 细胞疗法在肿瘤免疫治疗中已展现出巨大的潜力,尤其在血液系统恶性肿瘤的治疗中显示出卓越的疗效<sup>[2-4]</sup>。效应 CAR-T 细胞的数量是决定

**[基金项目]** 中国博士后科学基金面上资助项目(No. 2023M741629);国家自然科学基金面上项目(No. 82273011, No. 82072648)

**[作者简介]** 潘心怡(2001—),女,硕士,主要从事肿瘤免疫的基础及临床研究,E-mail: 502023350025@smail.nju.edu.cn;任政乾(2001—),男,硕士,主要从事肿瘤免疫的基础及临床研究,E-mail: 502023350029@smail.nju.edu.cn。△为共同第一作者

**[通信作者]** 王婷婷,E-mail: wangtt@nju.edu.cn;王欣玥,E-mail: wangxinyue@nju.edu.cn

CAR-T 细胞疗法治疗效果的关键因素之一<sup>[5]</sup>。因此,为使细胞数量达到治疗要求,需要对经过基因改造的T细胞进行体外培养。通常一个患者需要几十亿、甚至上百亿个CAR-T细胞,但是CAR-T细胞的体外扩增不仅对时间和人力物力消耗较大,部分患者还因为自身T细胞的数量和质量难以支撑全部疗程,不得不中断治疗<sup>[6]</sup>。CAR-T细胞回输体内后,由于肿瘤免疫抑制微环境等因素的影响,CAR-T细胞的数量进一步下降,且耗竭的T细胞会失去自我增殖和对抗肿瘤的能力<sup>[7]</sup>。因此,探寻在体内外增加效应CAR-T细胞数量的方法显得尤为重要,本文在回顾CAR-T细胞扩增存在问题的基础上,总结了近年来在体内外扩增CAR-T细胞的新方法,旨在为提高CAR-T细胞治疗实体瘤的疗效提供新思路。

### 1 CAR-T细胞扩增存在的问题

作为一种特殊的T淋巴细胞,CAR-T细胞的活化同样需要第一和第二信号。第一信号为抗原刺激信号,由TCR识别抗原提呈细胞(APC)提呈的抗原肽-MHC复合物(peptide-MHC, p-MHC)产生,经CD3转导信号,CD4或CD8信号起辅助作用,使T细胞初步活化。第二信号为共刺激信号,由APC或靶细胞表面的共刺激分子与T细胞表面相应的共刺激分子相互作用产生。在第一和第二信号的共同作用下T细胞完全活化,只有完全活化的T细胞才能进一步分泌细胞因子,在细胞因子的作用下实现细胞增殖和分化。

#### 1.1 CAR-T细胞体外扩增的问题

##### 1.1.1 扩增过程不可逆

CAR-T细胞的制备包括T细胞激活、病毒转染和体外扩增,此过程需时至少6 d。使用慢病毒作为转染载体,可携带更大的基因片段进入T细胞。然而,T细胞受体激活和克隆扩增会通过氧化应激等过程,造成T细胞的不可逆分化及抗肿瘤能力下降<sup>[8]</sup>。因此,CAR-T细胞在体外扩增的过程中可能受到不可逆的伤害,这对缩短CAR-T细胞体外培养的时间及克服CAR慢病毒活化T细胞的障碍提出了更高的要求。

##### 1.1.2 扩增缺乏CAR特异性

目前,主要是通过细胞因子刺激CAR-T细胞的体外扩增,细胞因子也被认为是T细胞扩增的第三信号。但是,基因改造后仅有部分T细胞表达CAR<sup>[9]</sup>,不表达CAR的T细胞在细胞因子这种非特异性刺激下甚至增殖得更快,从而导致基因改造效率进一步降低<sup>[10]</sup>。如图1所示,第一代CAR-T细胞依赖CD3 $\zeta$ 来介导T细胞的激活,临床疗效有限<sup>[11]</sup>;第二代和第三代CAR-T细胞在胞内信号转导区增加CD28、4-1BB或ICOS等共刺激分子<sup>[11]</sup>;第四代CAR-T细胞通过在CAR基因中引入细胞因子,实现了CAR-T细胞自分泌IL-12。但是,第四代CAR的结构较为复杂,而CAR-T细胞的转染效率与CAR的质粒大小成反比;第五代CAR-T细胞<sup>[12]</sup>在第二代的基础上添加了激活其他信号通路的共刺激结构域。但是,在改进CAR-T细胞结构的基础上,增加细胞因子和共刺激结构域也引发了CAR质粒过大造成扩增困难的问题。也就是说,CAR的基因结构越复杂,表达CAR的T细胞越少,这对CAR-T细胞的扩增提出了更高的要求。

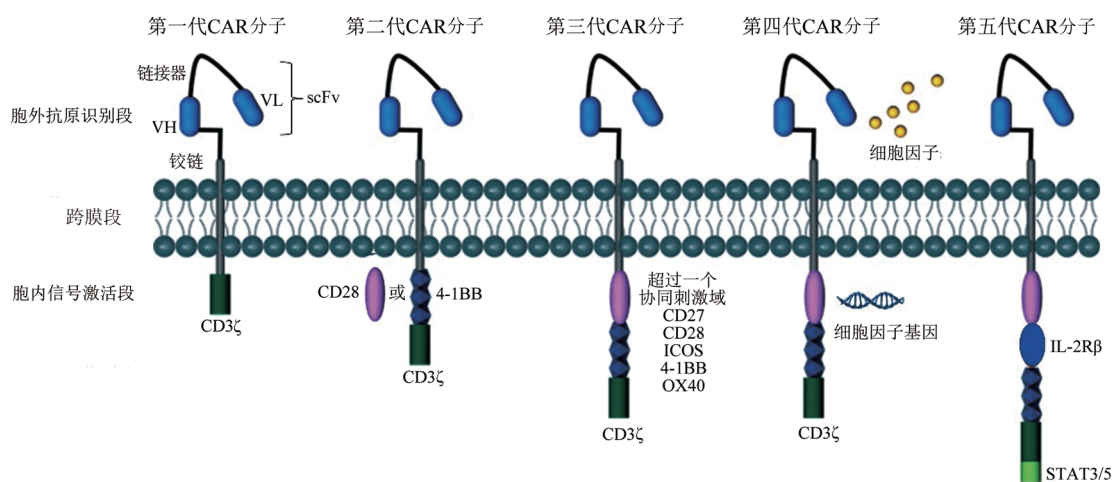


图1 第一代至第五代CAR分子的结构特征

#### 1.2 CAR-T细胞体内扩增的问题

##### 1.2.1 T细胞耗竭

目前,CAR-T细胞体内扩增的主要障碍是T细胞耗竭。在肿瘤患者体内,CAR-T细胞面对肿瘤细胞和

自身免疫细胞的双重打击,导致CAR-T细胞逐渐失去效应功能,记忆样T细胞特征也开始缺失<sup>[13]</sup>。T细胞耗竭的发生途径包括细胞间通信信号识别延长、可溶性细胞因子(IFN- $\gamma$ 、IL-10、TGF- $\beta$ 等)过量产生,以及组织和微环境的影响<sup>[14]</sup>。耗竭的CAR-T细胞既失去了分泌抗肿瘤细胞因子的能力,又失去了增殖能力和细胞毒作用。

### 1.2.2 细胞因子的系统性毒性

静脉输注细胞因子会导致毒副作用<sup>[15]</sup>(表1),在接受CAR-T细胞疗法的患者中,有23%~46%的患者表现出严重的超生理细胞因子产生和大量体内T细胞扩增<sup>[16]</sup>。CAR-T细胞与宿主的肿瘤细胞和免疫细胞发生强烈的相互作用,导致CAR-T细胞的急剧活化和扩增,引起细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS),限制了细胞因子在临床上的全身使用。

表1 细胞因子对CAR-T细胞疗法的作用及对人体的毒副作用

细胞因子	对CAR-T细胞的影响作用	毒副作用	参考文献
IL-2	刺激CAR-T细胞的扩增和效应功能	引发CRS和自身免疫组织损伤	[17-18]
IL-7	促进CAR-T细胞的扩增和存活	加重炎症反应和组织损伤程度	[19-20]
IL-10	促进CAR-T细胞活性和扩增,诱导干细胞样免疫记忆反应	全身和重复递送加重炎症反应	[21-22]
IL-12	激活CAR-T细胞和NK细胞	骨髓抑制,耐受性差,血流动力学不稳定,引发CRS	[23-24]
IL-15	增强CAR-T细胞在体内的持久性和活性	引发低血压、血小板减少;血清天冬氨酸转氨酶/丙氨酸转氨酶水平升高	[25-26]
IL-18	活化效应T细胞,抑制Treg细胞	促进肿瘤进展,引发免疫逃逸	[27]

## 1.3 CAR-T细胞的瘤内扩增

### 1.3.1 肿瘤免疫抑制微环境

与血液系统肿瘤不同,实体瘤内部普遍存在的酸性、低氧、营养贫乏的状态,不利于CAR-T细胞的存活和活化<sup>[28]</sup>。肿瘤微环境,即肿瘤细胞产生和生活的内环境<sup>[29]</sup>,其中不仅包括了肿瘤细胞本身,还有其周围的成纤维细胞、基质细胞、免疫细胞和炎症相关细胞等各种细胞,也包括附近区域内的细胞间质、微血管及浸润在其中的生物分子<sup>[30-32]</sup>。大部分CAR-T细胞难以物理穿透这层机械屏障,导致实体瘤内的CAR-T细胞数目大大降低<sup>[33]</sup>。另外,实体瘤微环境中存在大量免疫细胞,如Treg细胞<sup>[34]</sup>、髓源抑制性细胞、M2型肿瘤相关巨噬细胞<sup>[35]</sup>、N2型肿瘤相关中性粒细胞<sup>[36]</sup>,它们可生成转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )<sup>[37]</sup>、前列腺素E2(PEG2)<sup>[38]</sup>、活性氧<sup>[39]</sup>等,直接抑制CAR-T细胞的功能。此外,实体瘤细胞会分泌趋化因子,包括CXCL12<sup>[40]</sup>等,阻止效应T细胞浸润肿瘤。

## 2 体内外扩增CAR-T细胞的新策略

### 2.1 新型细胞因子刺激扩增

正如1.1中所述,如果大量静脉输注为T细胞提供活化第三信号的细胞因子,会导致严重的毒副作用。例如,IL-15具有免疫刺激功能,能够增强CAR-T细胞的活力和抗肿瘤作用持久性<sup>[41-42]</sup>。但是,全身输注IL-15可能会影响血压和凝血功能<sup>[43]</sup>。因此,有研究者<sup>[44]</sup>将IL-15片段融合入纳米粒子,通过CD45抗

体将含IL-15片段的纳米“背包”连接到CAR-T细胞表面,使第二代CAR-T细胞具有四代CAR-T细胞分泌细胞因子的功能。此种技术改造自身CAR-T细胞,是由于CAR-T细胞结构的复杂性影响转染效率。通过纳米技术构建精准细胞疗法,避免了由于CAR结构过于复杂导致的病毒包装难度大、转染效率低、影响T细胞本身功能等问题<sup>[45]</sup>。CAR-T细胞携带纳米粒子归巢肿瘤,增强纳米粒子的肿瘤靶向性,对肿瘤局部免疫微环境的修饰效果更佳<sup>[46]</sup>;同时,纳米粒子也增强了CAR-T细胞的抗肿瘤能力。但是,该“背包”策略也具有局限性,因为纳米背包不能与CAR-T细胞同时扩增,随着CAR-T细胞在体内扩增,IL-15的浓度也随之下降<sup>[44]</sup>。此外,由于免疫抑制微环境的存在,CAR-T细胞的抗肿瘤活性还受实体瘤中细胞因子可用性限制。一些CAR-T细胞通过释放IL-2等细胞因子增强其杀伤能力,这对除肿瘤以外的全身微环境产生巨大的毒副作用<sup>[47]</sup>。

最近,来自美国田纳西州孟菲斯圣裘德儿童研究医院的团队<sup>[48]</sup>设计了一种模块化嵌合细胞因子受体,采用两个亮氨酸拉链基序改造T细胞中异二聚体细胞因子受体的胞外结构,该胞外结构域可以提供JAK/STAT激活子。在没有外源细胞因子激活的条件下,基于IL-2、IL-7、IL-21或IL-12受体的亮氨酸拉链基序受体在体内外均可以增强CAR-T细胞抗实体瘤的活性,并且不会诱导非特异性CAR-T细胞增殖。

## 2.2 疫苗为CAR-T细胞扩增提供特异性信号

美国麻省理工学院 IRVINE 团队<sup>[49]</sup>证实,除T细胞固有的第一、二信号外,CAR-T细胞的扩增还需要特异性激活CAR-T细胞的“CAR信号”。靶抗原提供的CAR信号不仅刺激CAR-T细胞扩增,还可能通过代谢重编程促进内源T细胞启动。该团队前期将疫苗与CAR-T细胞疗法联用,不仅提高了CAR-T细胞的体内抗肿瘤活性,也激活了机体自身的抗肿瘤免疫。该疫苗是将刺激CAR-T细胞的抗原肽或CAR配体偶联在具有白蛋白结合域的长烷基链脂肪分子上,制备成双亲性疫苗。该双亲性疫苗的亲水端为抗原肽或CAR配体,疏水端为白蛋白结合域,在体内利用白蛋白内在的淋巴结回流机制将抗原肽和CAR配体引流到淋巴结发挥作用。将 $5 \times 10^4$ 个FITC-CAR-T细胞联合Amph-FITC疫苗接种到小鼠体内,该双亲性疫苗在体内被有效地引流到淋巴结,通过脂质尾部嵌入DC的细胞膜上,膜上的CAR配体将大量募集CAR-T细胞,产生的CAR-T细胞数量几乎是注射 $10 \times 10^6$ 个未处理CAR-T细胞的两倍。一旦CAR-T细胞到达淋巴结,抗原就会刺激它们,增强抗肿瘤T细胞群体,产生高效的免疫反应。CAR-T细胞-疫苗联合疗法还有望防止肿瘤复发。一旦CAR-T细胞开始破坏肿瘤,免疫系统就能够检测到更多的肿瘤抗原并产生靶向这些抗原的“记忆”T细胞群。2023年,该团队又在*Cell*上发表研究论文,进一步证实,携带第二代CAR-T细胞通过接受体内的激活淋巴结中CAR的双亲性配体疫苗再刺激,可以诱导抗原扩散(antigen spreading, AS),促进DC向肿瘤的募集,增加DC对肿瘤抗原的摄取,从而促进宿主 $CD4^+$ T和 $CD8^+$ T细胞对非CAR相关肿瘤抗原的强烈反应。这一过程伴随着CAR-T细胞代谢向氧化磷酸化(OXPHOS)的转变,并且依赖于CAR-T细胞来源的 $IFN-\gamma$ 。疫苗增强的CAR-T细胞诱导的抗原扩散即使在初始肿瘤为50%的CAR抗原阴性的情况下也能获得一定比例的完全反应,并且,通过CAR-T细胞扩增 $IFN-\gamma$ 的基因表达,进一步增强了异质性实体瘤的控制,最终维持CAR-T细胞在肿瘤免疫微环境的细胞毒性<sup>[50]</sup>。

## 2.3 增加浸润肿瘤的CAR-T细胞数目

如1.3中所述,CAR-T细胞难以浸润实体瘤,导致瘤内CAR-T细胞数量大大降低,直接影响了CAR-T细胞治疗实体瘤的效果。通过将重组趋化因子受体CCR2(b)分别导入靶向间皮素(MSLN)<sup>[51]</sup>和双唾液酸神经节苷脂2(GD2)<sup>[52]</sup>的CAR-T细胞,借助肿瘤细胞分泌的趋化因子帮助转运,增强CAR-T细胞的肿瘤浸润能力。2022年,ALLEN等<sup>[53]</sup>报道了带有合成细胞因子回路的治疗性T细胞,其中肿瘤特异性合成Notch

(synNotch)受体驱动IL-2的产生,在小鼠模型中,该方法可以使CAR-T细胞浸润到胰腺癌和黑色素瘤中,从而增强抗肿瘤效果。synNotch受体在与肿瘤表面的特定抗原A结合后,通过释放转录因子激发T细胞表达靶向第二个抗原B的CAR,从而激活T细胞杀伤肿瘤的功能<sup>[54]</sup>。

内化精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽(internalizing arginine-glycine-aspartate peptide, iRGD肽)是具有良好肿瘤穿透性的多肽,iRGD肽修饰纳米粒子后,能够明显增加载体对细胞的穿透性,提高药物载体在肿瘤组织中的分布<sup>[55]</sup>。 $CD4^+$ T细胞表面表达的 $\alpha v$ 整合素是iRGD肽的受体,可以与iRGD肽特异性结合。将iRGD肽修饰于T细胞表面,可提高T细胞对肿瘤的浸润能力<sup>[56]</sup>,从而增强抗肿瘤疗效。

此外,提高CAR-T细胞在异质性实体瘤上识别特异性且均匀表达的肿瘤抗原靶点<sup>[57]</sup>的能力也是亟待解决的问题。最近,*Science*期刊上发表的一篇名为益生菌介导的CAR-T细胞对实体瘤的靶向性的文章,由哥伦比亚大学的研究团队<sup>[58]</sup>设计了一种肿瘤定植的细菌(益生菌),并通过基因改造让这些细菌在肿瘤中产生合成靶标(ProCAR-Target)。这种合成靶标能够通过CXCL16的激活突变体(CXCL16K42A)引导CAR-T细胞识别并消灭含有该靶标的肿瘤细胞。这项研究的公布对于CAR-T细胞治疗实体瘤具有重大意义。

## 2.4 CAR-T细胞的体内转染

近年来,CAR-T细胞的体内制备也是热门研究方向。纳米粒子既具有淋巴细胞靶向性,又能负载核酸,被广泛应用于CAR-T细胞的体内转染。SMITH等<sup>[59]</sup>通过DNA纳米载体将特定的CAR基因转染到体内循环的T细胞,实现了体内转染CAR-T细胞。RURIK等<sup>[60]</sup>构建含T细胞靶向抗体的脂质纳米粒子,负载mRNA转运入T细胞,对T细胞进行基因编程,使其成为CAR-T细胞。总体来看,由于纳米粒子出色的生物相容性,用纳米技术制备CAR-T细胞在体内应用优势更为明显,如果CAR-T细胞的体内转染和扩增能进入临床,不仅能缩短CAR-T细胞的制备周期,而且能维持长期疗效。

## 2.5 延缓CAR-T细胞在体内的耗竭

除增加CAR-T细胞在体内的扩增和驻留时间,延缓CAR-T细胞在体内的耗竭也是关键因素。耗竭T细胞表达免疫抑制性受体,而使用免疫检查点抑制剂可以阻断这些信号,逆转耗竭的T细胞<sup>[61]</sup>。CAR-T细胞浸润肿瘤后被抗原激活,其表面分子如PD-1<sup>[62]</sup>和CTLA-4<sup>[63]</sup>表达进一步上调,其介导的下游信号抑制CAR-T细胞活性。CAR-T细胞与免疫抑制分子或者其受体的阻断剂联用,可减轻免疫微环境对CAR-T细胞的抑制作用<sup>[64]</sup>,例如用

PD-L1 单抗联合 TGF-β 抑制剂治疗“冷肿瘤”, 能够抑制肿瘤基质细胞的 TGF-β 信号通路, 促进 T 细胞浸润, 从而增强抗肿瘤免疫和抑制肿瘤生长<sup>[65]</sup>。免疫检查点抑制剂能否进入肿瘤微环境发挥作用是联合治疗成败的关键, 而高浓度或联合应用抑制剂又会导致全身的不良反应增加<sup>[66]</sup>。CAR-T 细胞能够自分泌 PD-1 抗体, 已在临床试验证明了 CAR-T 细胞的抗肿瘤效果, 但是由于胞内信号过多, CAR-T 细胞自分泌的 PD-1 抗体是否会影

响 CAR-T 细胞自身疗效的发挥, 尚无确凿证据。据报道<sup>[67]</sup>, 碱性亮氨酸拉链 ATF 样转录因子(basic leucine zipper ATF-like transcription factor, BATF) 是 T 细胞耗竭通路中的关键基因, 高表达 BATF 基因的 CAR-T 细胞在体内表现出记忆样细胞的表型, 将 BATF 基因转入 CAR-T 细胞, 可逆转耗竭并增强抗肿瘤效果, 提示基因改造将成为对抗 CAR-T 细胞耗竭的新手段。表 2 总结了的体内外扩增 CAR-T 细胞的优化策略及其方法。

表 2 CAR-T 细胞扩增方法的优化策略

目的	策略	方法	参考文献
增加 CAR-T 细胞数目和活性	借助细胞因子刺激, 上调免疫刺激性细胞因子及调节分子	在 CAR-T 结构中加入 synNotch 受体驱动产生 IL-2	[52]
		在 CAR-T 细胞表面链接含有 IL-15 片段的纳米粒子	[43]
	改造 CAR-T 细胞中细胞因子受体	在 CAR-T 结构中用亮氨酸拉链基序替换成嵌合细胞因子受体	[47]
		嵌合受体疫苗以增强特异性 CAR 信号	Amph-FITC 配体增强双特异性 CAR-T 细胞活性
	瘤内注射 Amph-FITC 配体实现 CAR-T 细胞对实体瘤普遍重定向		[69]
	增强 CAR-T 细胞浸润肿瘤肿瘤能力	通过外接材料引导 CAR-T 细胞浸润肿瘤, 以增强 CAR-T 细胞浸润肿瘤能力	CAR-T vax 疗法增强 CAR-T 细胞释放 IFN-γ 触发 DC 产生 IL-12
在 CAR-T 结构中添加促进浸润的相关基因			[70]
在 T 细胞表面链接肿瘤穿透性 iRGD 肽		[54]	
增加实体瘤内 CAR-T 细胞数目和驻留时间	用抑制剂暂停 CAR-T 细胞作用和驻留时间	容纳细胞因子和 CAR-T 细胞的水凝胶注射到体内, 持续扩增和释放 CAR-T 细胞	[71]
		改造益生菌合成 Pro CAR 平台修饰肿瘤细胞, 增强 CAR-T 细胞靶向性	[56]
	在 CAR-T 结构中添加延缓耗竭的相关基因, 以延缓 CAR-T 细胞耗竭	用达沙替尼(可逆性 CAR 信号的酪氨酸激酶抑制剂) 让 CAR-T 细胞暂时“休息”	[72]
		在 CAR 质粒中导入 BATF 基因	[66]
与抑制分子或者其受体的阻断剂联用, 以激活肿瘤免疫微环境	与 PD-L1 单抗和 TGF-β 抑制剂联用, 在 CAR-T 结构中加入自分泌 PD-1 单抗片段	[63]	
			[73]

### 3 结 语

CAR-T 细胞疗法在肿瘤免疫治疗中具有里程碑的意义, 但仍存在 CAR-T 细胞耗竭等问题, 导致体内有效抗肿瘤的 CAR-T 细胞数量大幅下降, 从而限制了 CAR-T 细胞疗法的疗效和临床转化。增加效应性 CAR-T 细胞的数量是决定 CAR-T 细胞疗法治疗效果的关键因素。近年来, 体内外扩增效应 CAR-T 细胞数量的方法屡见报道, 例如, 通过亮氨酸拉链基序模块化 CAR-T 细胞因子受体解决实体瘤中细胞因子的有限供应阻碍 CAR-T 细胞抗

肿瘤持续性的问题; 通过新型细胞因子刺激能够扩增 CAR-T 细胞数目和增强抗肿瘤作用持久性, 但其属于非特异性扩增, 所释放的细胞因子会产生 CRS 等毒副作用。新型疫苗通过设计特异性 CAR 配体, 刺激 CAR-T 细胞的特异性扩增和抗肿瘤作用, 使联合增强疫苗的 CAR-T 细胞回输体内产生高达未处理 CAR-T 细胞数目的两倍, 并通过 CAR-T 细胞氧化磷酸化代谢重编程释放 IFN-γ 促进内源性 T 细胞应答。值得注意的是, 该设计中的 Amph-配体疫苗属于化学合成材料, 生物相容性欠佳, 临床应用价值有待进一步考究。从长远发展来看, 能扩增

CAR-T细胞的生物制剂更具发展潜力,如工程化益生菌和金属佐剂锰离子(Mn<sup>2+</sup>)等,随着金属免疫学和微生物免疫学的发展,期待有更多的新型CAR-T细胞扩增策略向临床转化。

### [参考文献]

- [1] HUANG R, LI X, HE Y, *et al.* Recent advances in CAR-T cell engineering[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 86[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7333410/>.
- [2] CAPPELLI K M, SHERRY R M, YANG J C, *et al.* Long-term follow-up of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(32): 3805-3815[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7655016/>. DOI: 10.1200/JCO.20.01467.
- [3] MARTIN T, USMANI S Z, BERDEJA J G, *et al.* Ciltacabtagene autoleucel, an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor T-cell therapy, for relapsed/refractory multiple myeloma: CARTITUDE-1 2-year follow-up[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2023, 41(6): 1265-1274[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9937098/>. DOI: 10.1200/JCO.22.00842.
- [4] FOWLER N H, DICKINSON M, DREYLING M, *et al.* Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase 2 ELARA trial[J/OL]. *Nat Med*, 2022, 28(2): 325-332[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/4874220/>. DOI: 10.1038/s41591-021-01622-0.
- [5] SHAH N N, HIGHFILL S L, SHALABI H, *et al.* CD4/CD8 T-cell selection affects chimeric antigen receptor (CAR) T-cell potency and toxicity: updated results from a phase I anti-CD22 CAR T-cell trial[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(17): 1938-1950[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7280047/>. DOI: 10.1200/JCO.19.03279.
- [6] MAJOR A, YU J, SHUKLA N, *et al.* Efficacy of checkpoint inhibition after CAR-T failure in aggressive B-cell lymphomas: outcomes from 15 US institutions[J/OL]. *Blood Adv*, 2023, 7(16): 4528-4538[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10425681/>. DOI: 10.1182/bloodadvances.2023010016.
- [7] CHOW A, PERICA K, KLEBANOFF C A, *et al.* Clinical implications of T cell exhaustion for cancer immunotherapy[J/OL]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(12): 775-790[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10984554/>. DOI: 10.1038/s41571-022-00689-z.
- [8] GHASSEMI S, DURGIN J S, NUNEZ-CRUZ S, *et al.* Rapid manufacturing of non-activated potent CAR T cells[J/OL]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(2): 118-128[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8860360/>. DOI: 10.1038/s41551-021-00842-6.
- [9] WANG X Y, MENG F Y, LI X, *et al.* Nanomodified switch induced precise and moderate activation of CAR-T cells for solid tumors[J/OL]. *Adv Sci*, 2023, 10(12): e2205044[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10131841/>. DOI: 10.1002/adv.202205044.
- [10] WANG X Y, MENG F Y, YEN Y T, *et al.* Nanotechnology-based CAR-T strategies for improving efficacy and safety of tumor immunotherapy[J/OL]. *Adv Funct Materials*, 2021, 31(1): 2004713[2024-04-15]. <https://doi.org/10.1002/adfm.202004713>. DOI: 10.1002/adfm.202004713.
- [11] LARSON R C, MAUS M V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(3): 145-161. DOI: 10.1038/s41568-020-00323-z.
- [12] KAGOYA Y, TANAKA S, GUO T X, *et al.* A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects[J/OL]. *Nat Med*, 2018, 24(3): 352-359[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5839992/>. DOI: 10.1038/nm.4478.
- [13] BRIGHTMAN S E, BECKER A, THOTA R R, *et al.* Neoantigen-specific stem cell memory-like CD4<sup>+</sup> T cells mediate CD8<sup>+</sup> T cell-dependent immunotherapy of MHC class II-negative solid tumors[J/OL]. *Nat Immunol*, 2023, 24(8): 1345-1357[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10382322/>. DOI: 10.1038/s41590-023-01543-9.
- [14] WHERRY E J, KURACHI M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(8): 486-499. DOI: 10.1038/nri3862.
- [15] GIAVRIDIS T, VAN DER STEGEN S J C, EYQUEM J, *et al.* CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade[J/OL]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 731-738[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6410714/>. DOI: 10.1038/s41591-018-0041-7.
- [16] STERNER R C, STERNER R M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(4): 69[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33824268/>. DOI: 10.1038/s41408-021-00459-7.
- [17] ROSENBERG S A. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer[J]. *J Immunol*, 2014, 192(12): 5451-5458. DOI: 10.4049/jimmunol.1490019.
- [18] ALWAN L M, GROSSMANN K, SAGESER D, *et al.* Comparison of acute toxicity and mortality after two different dosing regimens of high-dose interleukin-2 for patients with metastatic melanoma[J]. *Target Oncol*, 2014, 9(1): 63-71. DOI: 10.1007/s11523-013-0276-7.
- [19] 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.
- [20] KOZMA G T, MÉSZÁROS T, BAKOS T, *et al.* Mini-factor H modulates complement-dependent IL-6 and IL-10 release in an immune cell culture (PBMC) model: potential benefits against cytokine storm[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 642860[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8113956/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.642860.
- [21] ZHAO Y, CHEN J Q, ANDREATTA M, *et al.* IL-10-expressing CAR T cells resist dysfunction and mediate durable clearance of solid tumors and metastases[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2024[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38168996/>. DOI: 10.1038/s41587-023-02060-8.
- [22] BU T, LI Z L, HOU Y, *et al.* Exosome-mediated delivery of inflammation-responsive IL-10 mRNA for controlled atherosclerosis treatment[J]. *Theranostics*, 2021, 11(20): 9988-10000. DOI: 10.7150/thno.64229.
- [23] BOULCH M, CAZAUX M, LOE-MIE Y, *et al.* A cross-talk between CAR T cell subsets and the tumor microenvironment is essential for sustained cytotoxic activity[J/OL]. *Sci Immunol*, 2021, 6(57): eabd4344[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33771887/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.abd4344.
- [24] 黎陈铖, 刘细细, 陈碧清, 等. IL-12-CAR-T细胞诱发细胞因子释放

- 综合征小鼠模型的建立及观察[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 30(1): 28-34. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.004.
- [25] MA X C, SHOU P S, SMITH C, *et al.* Interleukin-23 engineering improves CAR T cell function in solid tumors[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(4): 448-459[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7466194/>. DOI: 10.1038/s41587-019-0398-2.
- [26] HONG E P, USISKIN I M, BERGAMASCHI C, *et al.* Configuration-dependent presentation of multivalent IL-15: IL-15R $\alpha$  enhances the antigen-specific T cell response and anti-tumor immunity[J/OL]. *J Biol Chem*, 2016, 291(17): 8931-8950[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4861462/>. DOI: 10.1074/jbc.M115.695304.
- [27] JASPERS J E, KHAN J F, GODFREY W D, *et al.* IL-18-secreting CAR T cells targeting DLL3 are highly effective in small cell lung cancer models[J/OL]. *J Clin Invest*, 2023, 133(9): e166028[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10145930/>. DOI: 10.1172/JCI166028.
- [28] BOEDTKJER E, PEDERSEN S F. The acidic tumor microenvironment as a driver of cancer[J]. *Annu Rev Physiol*, 2020, 82: 103-126. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021119-034627.
- [29] KAO K C, VILBOIS S, TSAI C H, *et al.* Metabolic communication in the tumour-immune microenvironment[J/OL]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(11): 1574-1583[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/2849637/>. DOI: 10.1038/s41556-022-01002-x.
- [30] WU T, DAI Y. Tumor microenvironment and therapeutic response[J]. *Cancer Lett*, 2017, 387: 61-68. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.01.043.
- [31] ZHAO Y, SHEN M L, WU L Q, *et al.* Stromal cells in the tumor microenvironment: accomplices of tumor progression?[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(9): 587[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10477351/>. DOI: 10.1038/s41419-023-06110-6.
- [32] GUO S, DENG C X. Effect of stromal cells in tumor microenvironment on metastasis initiation[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(14): 2083-2093. DOI: 10.7150/ijbs.25720.
- [33] PARK J, HSUEH P C, LI Z Y, *et al.* Microenvironment-driven metabolic adaptations guiding CD8<sup>+</sup> T cell anti-tumor immunity[J]. *Immunity*, 2023, 56(1): 32-42. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.12.008.
- [34] LI C X, JIANG P, WEI S H, *et al.* Regulatory T cells in tumor microenvironment: new mechanisms, potential therapeutic strategies and future prospects[J/OL]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 116[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32680511/>. DOI: 10.1186/s12943-020-01234-1.
- [35] PAN Y Y, YU Y D, WANG X J, *et al.* Tumor-associated macrophages in tumor immunity[J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 583084[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33365025/>. DOI: 10.3389/fimmu.2020.583084.
- [36] GIESE M A, HIND L E, HUTTENLOCHER A. Neutrophil plasticity in the tumor microenvironment[J]. *Blood*, 2019, 133(20): 2159-2167. DOI: 10.1182/blood-2018-11-844548.
- [37] NARAYAN V, BARBER-ROTENBERG J S, JUNG I Y, *et al.* PSMA-targeting TGF $\beta$ -insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase I trial[J/OL]. *Nat Med*, 2022, 28(4): 724-734[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10308799/>. DOI: 10.1038/s41591-022-01726-1.
- [38] XIA L Z, OYANG L, LIN J G, *et al.* The cancer metabolic reprogramming and immune response[J/OL]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 28[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33546704/>. DOI: 10.1186/s12943-021-01316-8.
- [39] YANG M Y, LI J P, GU P, *et al.* The application of nanoparticles in cancer immunotherapy: targeting tumor microenvironment[J]. *Bioact Mater*, 2020, 6(7): 1973-1987. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2020.12.010.
- [40] MENG W F, XUE S H, CHEN Y. The role of CXCL12 in tumor microenvironment[J]. *Gene*, 2018, 641: 105-110. DOI: 10.1016/j.gene.2017.10.015.
- [41] LANITIS E, ROTA G, KOSTI P, *et al.* Optimized gene engineering of murine CAR-T cells reveals the beneficial effects of IL-15 coexpression[J/OL]. *J Exp Med*, 2021, 218(2): e20192203[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7653685/>. DOI: 10.1084/jem.20192203.
- [42] ALIZADEH D, WONG R A, YANG X, *et al.* IL15 enhances CAR-T cell antitumor activity by reducing mTORC1 activity and preserving their stem cell memory phenotype[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(5): 759-772[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6687561/>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0466.
- [43] JANDL K, MARSH L M, MUTGAN A C, *et al.* Impairment of the NKT-STAT1-CXCL9 axis contributes to vessel fibrosis in pulmonary hypertension caused by lung fibrosis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 206(8): 981-998. DOI: 10.1164/rccm.202201-0142OC.
- [44] TANG L, ZHENG Y R, MELO M B, *et al.* Enhancing T cell therapy through TCR-signaling-responsive nanoparticle drug delivery[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(8): 707-716. DOI: 10.1038/nbt.4181.
- [45] ZUO Y H, ZHAO X P, FAN X X. Nanotechnology-based chimeric antigen receptor T-cell therapy in treating solid tumor[J/OL]. *Pharmacol Res*, 2022, 184: 106454[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36115525/>. DOI: 10.1016/j.phrs.2022.106454.
- [46] NGUYEN N T, HUANG K, ZENG H X, *et al.* Nano-optogenetic engineering of CAR T cells for precision immunotherapy with enhanced safety[J]. *Nat Nanotechnol*, 2021, 16(12): 1424-1434. DOI: 10.1038/s41565-021-00982-5.
- [47] KIM J, KANG S, KIM K W, *et al.* Nanoparticle delivery of recombinant IL-2 (BALLkine-2) achieves durable tumor control with less systemic adverse effects in cancer immunotherapy[J/OL]. *Biomaterials*, 2022, 280: 121257[2024-04-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34839122/>. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121257.
- [48] BELL M, LANGE S, SEJDIU B I, *et al.* Modular chimeric cytokine receptors with leucine zippers enhance the antitumor activity of CAR T cells via JAK/STAT signalling[J/OL]. *Nat Biomed Eng*, 2024, 8(4): 380-396[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/5996391/>. DOI: 10.1038/s41551-023-01143-w.
- [49] MA L Y, DICHWALKAR T, CHANG J Y H, *et al.* Enhanced CAR-T cell activity against solid tumors by vaccine boosting through the chimeric receptor[J/OL]. *Science*, 2019, 365(6449): 162-168[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6800571/>. DOI: 10.1126/science.aav8692.
- [50] MA L Y, HOSTETLER A, MORGAN D M, *et al.* Vaccine-boosted CAR T crosstalk with host immunity to reject tumors with antigen heterogeneity[J/OL]. *Cell*, 2023, 186(15): 3148-3165.e20[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10372881/>. DOI: 10.1016/j.cell.2023.06.002.
- [51] MOON E K, CARPENITO C, SUN J, *et al.* Expression of a

- functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human T cells expressing a mesothelin-specific chimeric antibody receptor[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(14): 4719-4730. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0351.
- [52] CRADDOCK J A, LU A, BEAR A, *et al.* Enhanced tumor trafficking of GD2 chimeric antigen receptor T cells by expression of the chemokine receptor CCR2b[J]. *J Immunother*, 2010, 33(8): 780-788. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181ee6675.
- [53] ALLEN G M, FRANKEL N W, REDDY N R, *et al.* Synthetic cytokine circuits that drive T cells into immune-excluded tumors[J/OL]. *Science*, 2022, 378(6625): eaba1624[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9970000/>. DOI: 10.1126/science.aba1624.
- [54] 史天宇, 孟凡岩. 基于合成生物学的 CAR-T 细胞治疗实体肿瘤的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(3): 261-266. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.03.011.
- [55] WANG Y Z, XIE Y, LI J, *et al.* Tumor-penetrating nanoparticles for enhanced anticancer activity of combined photodynamic and hypoxia-activated therapy[J/OL]. *ACS Nano*, 2017, 11(2): 2227-2238[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5332348/>. DOI: 10.1021/acsnano.6b08731.
- [56] DING N Q, ZOU Z Y, SHA H Z, *et al.* iRGD synergizes with PD-1 knockout immunotherapy by enhancing lymphocyte infiltration in gastric cancer[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1336[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6430780/>. DOI: 10.1038/s41467-019-09296-6.
- [57] HE J J, XIONG X X, YANG H, *et al.* Defined tumor antigen-specific T cells potentiate personalized TCR-T cell therapy and prediction of immunotherapy response[J/OL]. *Cell Res*, 2022, 32(6): 530-542[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9160085/>. DOI: 10.1038/s41422-022-00627-9.
- [58] VINCENT R L, GURBATHI C R, LI F D, *et al.* Probiotic-guided CAR-T cells for solid tumor targeting[J/OL]. *Science*, 2023, 382(6667): 211-218[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10915968/>. DOI: 10.1126/science.add7034.
- [59] SMITH T T, STEPHAN S B, MOFFETT H F, *et al.* *In situ* programming of leukaemia-specific T cells using synthetic DNA nanocarriers[J/OL]. *Nat Nanotechnol*, 2017, 12(8): 813-820[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5646367/>. DOI: 10.1038/nnano.2017.57.
- [60] RURIK J G, TOMBÁČZ I, YADEGARI A, *et al.* CAR T cells produced *in vivo* to treat cardiac injury[J/OL]. *Science*, 2022, 375(6576): 91-96[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9983611/>. DOI: 10.1126/science.abm0594.
- [61] RIBAS A, WOLCHOK J D. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1350-1355. DOI: 10.1126/science.aar4060.
- [62] ROYBAL K T, LIM W A. Synthetic immunology: hacking immune cells to expand their therapeutic capabilities[J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 229-253. DOI: 10.1146/annurev-immunol-051116-052302.
- [63] EWING M M, KARPER J C, ABDUL S, *et al.* T-cell co-stimulation by CD28-CD80/86 and its negative regulator CTLA-4 strongly influence accelerated atherosclerosis development[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(3): 1965-1974. DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.12.085.
- [64] NEWICK K, O'BRIEN S, SUN J, *et al.* Augmentation of CAR T-cell trafficking and antitumor efficacy by blocking protein kinase A localization[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(6): 541-551[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4891259/>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0263.
- [65] MARIATHASAN S, TURLEY S J, NICKLES D, *et al.* TGF $\beta$  attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells[J]. *Nature*, 2018, 554(7693): 544-548. DOI: 10.1038/nature25501.
- [66] BARROSO-SOUSA R, BARRY W T, GARRIDO-CASTRO A C, *et al.* Incidence of endocrine dysfunction following the use of different immune checkpoint inhibitor regimens: a systematic review and meta-analysis[J/OL]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(2): 173-182[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5838579/>. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.3064.
- [67] CHEN Y, ZANDER R A, WU X P, *et al.* BATF regulates progenitor to cytolytic effector CD8<sup>+</sup> T cell transition during chronic viral infection[J/OL]. *Nat Immunol*, 2021, 22(8): 996-1007[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9258987/>. DOI: 10.1038/s41590-021-00965-7.
- [68] SEO H, GONZÁLEZ-AVALOS E, ZHANG W D, *et al.* BATF and IRF4 cooperate to counter exhaustion in tumor-infiltrating CAR T cells[J/OL]. *Nat Immunol*, 2021, 22(8): 983-995[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8319109/>. DOI: 10.1038/s41590-021-00964-8.
- [69] ZHANG A Q, HOSTETLER A, CHEN L E, *et al.* Universal redirection of CAR T cells against solid tumours *via* membrane-inserted ligands for the CAR[J/OL]. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7(9): 1113-1128[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10504084/>. DOI: 10.1038/s41551-023-01048-8.
- [70] YANG Y P, MCCLOSKEY J E, YANG H, *et al.* Bispecific CAR T cells against EpCAM and inducible ICAM-1 overcome antigen heterogeneity and generate superior antitumor responses[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2021, 9(10): 1158-1174[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8492509/>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-21-0062.
- [71] GROSSKOPF A K, LABANIEH L, KLYSZ D D, *et al.* Delivery of CAR-T cells in a transient injectable stimulatory hydrogel niche improves treatment of solid tumors[J/OL]. *Sci Adv*, 2022, 8(14): eabn8264[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8993118/>. DOI: 10.1126/sciadv.abn8264.
- [72] WEBER E W, PARKER K R, SOTILLO E, *et al.* Transient rest restores functionality in exhausted CAR-T cells through epigenetic remodeling[J/OL]. *Science*, 2021, 372(6537): eaba1786[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8049103/>. DOI: 10.1126/science.aba1786.
- [73] FANG J M, DING N, GUO X L, *et al.*  $\alpha$ PD-1-mesoCAR-T cells partially inhibit the growth of advanced/refractory ovarian cancer in a patient along with daily apatinib[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(2): e001162[2024-04-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7887368/>. DOI: 10.1136/jitc-2020-001162.

[收稿日期] 2024-04-19

[修回日期] 2024-05-26

[本文编辑] 党瑞山