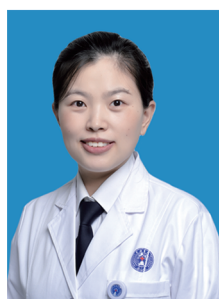


DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.01.001

· 院士论坛 ·

CAR-NK 细胞治疗实体瘤的现状、机遇与挑战

刘艳芳,曹雪涛(海军军医大学 免疫与炎症全国重点实验室,上海 200433)



刘艳芳 医学博士,副主任医师、副教授,博士生导师,现任海军军医大学第一附属医院病理科副主任。兼任上海市医学会病理专科分会青年委员会副主任委员、中国女医师协会病理专科分会委员。师从著名免疫学家曹雪涛院士,为免疫与炎症全国重点实验室骨干成员。聚焦肿瘤免疫及细胞治疗方向,主要参与研发的基于新靶点CAR-NK细胞已进入临床研究阶段。以第一及通信/共同通信作者身份在 *Cancer Cell*、*Nature Medicine*、*JEM* 等国际知名期刊发表研究论文 15 篇,获授权国家发明专利 6 项。主持国家自然科学基金 4 项和科技部重点研发计划子课题,为国家自然科学基金创新研究群体骨干成员,主译病理学专著 1 部。入选国家优青,军队青年科技英才,上海市教委“曙光”计划,全军优博、上海市“启明星”、中国免疫学会青年学者奖等。



曹雪涛 教授,中国工程院院士,国家卫生健康委员会副主任、中国医学科学院免疫治疗研究中心主任、南开大学免疫学研究所所长、海军军医大学免疫与炎症全国重点实验室学术委员会主任,中国工程院党组成员,十三届全国政协教科卫体委员会副主任,中国免疫学会名誉理事长。曾任中国医学科学院院长、北京协和医学院校长、南开大学校长、第二军医大学副校长,全球慢性疾病合作联盟主席、亚洲大洋洲免疫学会联盟主席、中国免疫学会理事长、中国生物医学工程学会理事长、中国科协生命科学学会联合体主席、医学免疫学国家重点实验室创始人,德国科学院院士、美国国家医学科学院院士、美国人文与科学院院士、法国医学科学院院士、英国医学科学院院士。从事免疫与炎症的基础研究、肿瘤等重大疾病的免疫治疗转化应用研究。担任 *Immunity* 等杂志编委, *Cell Mol Immunol* 共同主编、《中国肿瘤生物治疗杂志》主编、《中华医学杂志》主编。

[摘要] 嵌合抗原受体自然杀伤细胞(CAR-NK细胞)疗法作为一种新兴的细胞免疫治疗策略,凭借其高安全性和“现货化”制备的独特优势,展现出比CAR-T细胞疗法更为广阔的临床应用潜力。本文深入论述了CAR-NK细胞的抗肿瘤机制,详细剖析了其靶向识别机制、固有杀伤活性,以及通过特异性受体优化以增强其在肿瘤微环境中的适应能力的最新进展。对CAR-NK细胞的多种细胞来源,包括外周血、脐带血、诱导多能干细胞(iPSC)及NK-92细胞等的优势与挑战进行了深入讨论,并总结了其在肿瘤免疫微环境中面临的持久性不足、免疫抑制,以及抗原异质性等主要瓶颈,提出了CAR-NK细胞治疗实体瘤的优势、局限性及未来发展与临床应用的方向。

[关键词] 嵌合抗原受体;CAR-NK细胞;肿瘤免疫治疗;细胞治疗;实体瘤

[中图分类号] R730.51; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 01-0001-08

Current status, opportunities, and challenges of CAR-NK cell therapy for solid tumors

LIU Yanfang, CAO Xuetao (National Key Laboratory of Immunology and Inflammation, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Chimeric antigen receptor natural killer (CAR-NK) cell therapy, as an emerging cellular immunotherapy strategy, has demonstrated a broader clinical application potential compared to CAR-T cell therapy due to its high safety profile and the unique advantages of 'off-the-shelf' preparation. This article thoroughly discusses the antitumor mechanisms of CAR-NK cells, elucidating their targeted recognition mechanism, inherent cytotoxic activity, and the latest advancements in optimizing specific receptors to enhance their adaptability within the tumor microenvironment. Additionally, it provides an in-depth analysis of the advantages and challenges of various sources for CAR-NK cells, including peripheral blood, umbilical cord blood, induced pluripotent stem cells (iPSCs), and NK-92 cells, while summarizing their major challenges in the tumor immune microenvironment, such as insufficient

[基金项目] 国家自然科学基金优秀青年项目(No. 82222054);国家重点研发计划“常见多发病防治研究”重点专项项目(No. 2023YFC2505900)

[作者简介] 刘艳芳(1986—),女,博士,副教授,副主任医师,主要从事临床病理诊断工作和肿瘤免疫学研究。E-mail: liuyanfang00215@163.com

[通信作者] 曹雪涛, E-mail: caoxt@immunol.org

persistence, immune suppression, and antigen heterogeneity. Finally, this article presents the therapeutic potential, limitations, and future perspectives of CAR-NK therapy in treating solid tumors, with a focus on its ongoing development and clinical translation.

[Key words] chimeric antigen receptor (CAR); CAR-NK cell; tumor immunotherapy; cell therapy; solid tumor

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(1): 1-8. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.01.001]

嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)修饰免疫细胞治疗的概念首次提出于1993年,并在过去十年里取得了显著的临床进展^[1]。嵌合抗原受体基因修饰T淋巴细胞(CAR-T细胞)疗法的成功为细胞免疫治疗开辟了新的路径。其核心原理是通过基因工程将特定功能的人工CAR转染至T细胞,使其获得精准识别和杀伤肿瘤细胞的能力^[2]。该技术在血液肿瘤的治疗中取得了显著成功。2017年,靶向CD19的CAR-T细胞的tisagenlecleucel(Kymriah™)^[3]和靶向CD19的CAR-T细胞的axicabtagene ciloleucel(Yescarta®)^[4]相继获得美国FDA批准,成为首批上市的CAR-T细胞疗法。然而,CAR-T细胞在实体瘤治疗过程中仍面临免疫抑制、抗原异质性,以及T细胞相关不良反应等挑战。因此,研究者探索新的底盘细胞,以进一步提升CAR技术的适用性和安全性^[5-6]。

自然杀伤细胞(NK细胞)于20世纪70年代在小鼠中被首先发现,因其对肿瘤细胞具有自发细胞毒活性、无需致敏且没有主要组织相容性复合物(MHC)限制性,由此被命名为“自然杀伤”细胞^[7-10]。与T和B淋巴细胞不同,NK细胞的胚系构型不会重新排列为特异性的TCR或免疫球蛋白基因,不通过其特异性受体对外来抗原做出反应,而是通过识别自身配体来鉴别“自我”与“非我”,并在靶细胞抑制信号较弱时激活杀伤功能^[11]。CAR-NK细胞疗法通过将CAR结构导入NK细胞,使其具备特异性靶向肿瘤抗原的能力。该策略既保留了NK细胞的多靶点杀伤能力,又增强了其特异性和抗肿瘤效能^[12]。相比CAR-T细胞,CAR-NK细胞疗法具有较低的细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)和神经毒性风险,无移植抗宿主病(GVHD)风险,且可通过脐带血或诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)进行“现货化”制备^[13-14]。基于上述优势,CAR-NK细胞疗法在实体瘤治疗中的应用潜力尤为引人关注。通过有效应对实体瘤复杂的免疫微环境、抗原异质性和耐药性问题,CAR-NK细胞有望成为一种突破性疗法,为众多肿瘤患者带来新的治疗选择。

1 CAR-NK细胞治疗肿瘤的机制

NK细胞与T细胞是抗肿瘤免疫的重要效应细胞,其杀伤机制既存在共性也存在差异性。NK细胞和T细胞均能通过分泌穿孔素和颗粒酶攻击肿瘤细胞^[15]。此外,它们均可以通过细胞因子(如IFN- γ)调节其他免疫细

胞的功能,促进协同抗肿瘤反应的形成^[16]。在肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中,T细胞和NK细胞的功能均可能受到免疫抑制因子的干预^[17]。

T细胞与NK细胞的杀伤差异主要源于其杀伤活化机制的差异。T细胞的杀伤依赖于T细胞受体(TCR)对抗原提呈细胞(APC)表达的MHC-抗原肽复合物的特异性识别,而NK细胞不依赖抗原提呈即可识别靶细胞,这使NK细胞对MHC-I表达下调的肿瘤细胞具有更高的敏感性^[18]。NK细胞直接杀伤机制主要依赖表面激活和抑制性受体的动态平衡。激活受体(如NKG2D、NKp30、NKp44和NKp46等)能够识别肿瘤细胞表达的应激诱导分子(如MICA/B、ULBP家族分子)并触发细胞毒性反应^[19-20]。同时,抑制性受体(如KIR和NKG2A)通过识别靶细胞表面的MHC-I分子维持对正常细胞的免疫耐受^[21-22]。此外,NK细胞可通过分泌细胞因子(如IFN- γ 、TNF- α)增强抗肿瘤免疫反应,这种多靶点、多机制的杀伤模式,使NK细胞在应对抗原异质性和免疫逃逸的肿瘤时具有固有优势^[23]。

虽然大部分商品化的CAR-NK细胞沿用了CAR-T细胞中的CAR结构,但CAR-NK细胞的信号转导更加注重适配NK细胞的固有生物学特性。例如,NK细胞特异性的信号分子如DAP10和DAP12被用于设计CAR的信号域,可以更好地激活NK细胞的固有杀伤机制^[24]。此外,研究者^[25-26]尝试将NK细胞的固有活化受体(如NKG2D、DNAM-1和2B4)的信号域整合到CAR结构中,以增强CAR-NK细胞的激活和效应功能。这些设计利用了NK细胞固有的多受体协同机制,使CAR-NK细胞能够在TME中表现出更强的适应性和抵抗免疫抑制微环境的能力。

CAR-NK细胞的一个显著优势在于其不仅具有CAR介导的靶向杀伤活性,还保留了自然杀伤受体(natural killer receptor, NKR)介导的广谱杀伤活性^[27]。这一特点使CAR-NK细胞在面对抗原异质性或抗原逃逸的肿瘤时,能够通过多种机制发挥作用。许多肿瘤细胞表面表达的应激分子(如MICA/B和ULBP家族)可被NK细胞的NKG2D、NKp44和NKp30等NKR识别并诱导杀伤^[28]。这些NKR的胞外段可以特异性结合肿瘤相关分子,并通过信号转导引发强效的细胞毒性。此外,这些受体还可被改造成嵌合受体,与CAR结构相结合,从而进一步增强NK细胞的识别能力和功能效应。

除了直接杀伤肿瘤细胞,CAR-NK细胞还依赖NKR识

别和清除TME中的免疫抑制性细胞。研究^[29]表明,髓源性抑制细胞(MDSC)在TME中常高表达NKG2DL,这些分子能够被CAR-NK细胞表面的NKG2D识别并介导清除,从而减轻对其他免疫效应细胞的抑制作用。此外,CAR-NK细胞在清除免疫抑制性细胞后,还能够通过分泌细胞因子招募树突状细胞(DC),从而增强抗原提呈能力,激活适应性免疫系统,促进机体整体免疫应答^[30]。

2 CAR 宿主细胞的主要来源

目前,CAR-NK细胞的主要来源包括外周血自然杀伤细胞(PB-NK细胞)、脐带血衍生的自然杀伤细胞(UCB-NK细胞)、iPSC或人胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)衍生的NK细胞,以及NK92细胞^[31]。PB-NK细胞是研究最广泛、获取相对便捷的一类来源。PB-NK细胞可以通过密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(PBMC)后进一步分选获得^[32]。鉴于PB-NK细胞的数量较为有限且异质性较高,需要优化体外扩增技术来满足治疗需求^[33]。因此,部分临床试验选择使用NK92细胞作为CAR的宿主细胞。NK92细胞是一种源自非霍奇金淋巴瘤的NK细胞样细胞,其具有较高的扩增效率和均一性,是标准化生产CAR-NK细胞的重要选择^[34]。然而,NK92细胞的缺点包括本身缺乏CD16[参与抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)]和其他一些NK细胞活性受体,并且必须经辐射后才能用于临床,以抑制其潜在的增殖能力,避免肿瘤性克隆形成^[35]。尽管如此,基于NK92细胞的CAR-NK细胞在体外和体内实验中表现出良好的抗肿瘤活性,仍使其成为CAR-NK细胞开发的重要工具^[36]。

UCB-NK细胞以其来源稳定、低免疫原性、较高的增殖潜力和较强的活性,成为CAR-NK细胞研究的另一重要选择^[37]。因UCB-NK细胞成熟度较低和引发GVHD的风险较低,适合异体应用^[38]。此外,通过iPSC或hESC分化获得的NK细胞是近年来快速发展的平台,其优势在于理论上可以提供无限的细胞来源,且能够在分化前进行基因编辑,从而实现功能的精准优化^[36-38]。

CAR-NK细胞的开发和建立仍面临诸多技术难题,特别是在转染效率和扩增体系的优化方面。与T细胞相比,NK细胞对基因转染的敏感性较高,其基因编辑的稳定性和效率较低,这显著限制了CAR-NK细胞的开发。常用的转染方法包括病毒载体(如慢病毒、逆转录病毒)和非病毒方法(如电穿孔、脂质体介导)^[39]。病毒载体具有较高的转染效率,但其生产成本低、时间长且存在一定的基因毒性风险。非病毒

方法成本较低且安全性更高,但转染效率较低且表达不稳定。尤其是在原代NK细胞中,传统慢病毒和逆转录病毒的转染效率远低于T细胞,这一问题严重限制了原代NK细胞在CAR-NK细胞开发中的应用。

扩增体系的优化是另一个关键挑战。PB-NK细胞和UCB-NK细胞在外周血和脐带血中的数量有限,因此需要通过体外扩增技术获得足够数量的细胞以满足临床治疗需求。目前常用的扩增方法包括添加细胞因子(如IL-2、IL-15、IL-21)和使用人工饲养细胞(如K562细胞)以提供生长因子支持^[40-41]。然而,扩增过程中容易出现NK细胞衰竭和功能下降,这需要通过优化扩增条件加以克服。此外,为了满足临床需求,还需要建立无饲养层、无血清的扩增体系,以提高CAR-NK细胞产品的一致性和安全性。

3 CAR-NK 细胞疗法的临床应用

CAR-NK细胞在血液系统恶性肿瘤中的应用是目前研究最为深入的领域,尤其是在B细胞恶性肿瘤的治疗中已经取得了显著进展(表1)。在NCT03056339试验^[42]中,使用脐带血来源的CAR-NK细胞靶向CD19,在复发性或难治性B细胞淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病患者中显示出显著的临床疗效。结果显示,在11例患者中,有73%的患者达到完全或部分缓解,且未观察到CRS或GVHD。这一结果初步验证了CAR-NK细胞在血液系统恶性肿瘤治疗中的安全性和有效性。此外,CAR-NK细胞还被用于靶向其他血液肿瘤抗原,如CD33(髓系白血病)和BCMA(多发性骨髓瘤)。在NCT04319757试验^[43]中,CAR-NK细胞通过靶向BCMA实现了多发性骨髓瘤患者的疾病缓解,同时表现出良好的安全性。这些研究表明,CAR-NK细胞疗法在血液系统恶性肿瘤中具有广泛的应用潜力,为进一步优化其疗效和生产工艺提供了重要依据。

表1 目前正在进行的CAR-NK细胞疗法的临床试验

注册号	靶点	试验阶段	细胞
NCT03056339	CD19	I/II期	PB-NK细胞
NCT03940820	CD19	I期	NK-92细胞
NCT02839954	CD33	I期	PB-NK细胞
NCT03692663	NKG2D	I期	PB-NK细胞
NCT04050709	PD-L1	I期	NK-92细胞
NCT05008549	MUC1	I期	iPSC衍生NK细胞
NCT03941457	HER2	I期	NK-92细胞
NCT04319757	BCMA	I期	PB-NK细胞
NCT04796675	MSLN	I期	PB-NK细胞
NCT04623944	CD7	I期	PB-NK细胞

表中资料引自<https://clinicaltrials.gov/>。

相比血液系统恶性肿瘤, CAR-NK 细胞在实体瘤中的临床应用尚处于初步探索阶段。实体瘤复杂的 TME 和抗原异质性对 CAR-NK 细胞疗法提出了更高的挑战。然而, 多个临床试验为其在实体瘤中的应用提供了早期证据。例如, NCT03941457 试验评估了靶向 ROBO1 阳性的 CAR-NK 细胞在 ROBO1 阳性实体瘤患者中的疗效, 结果显示, 部分患者的肿瘤负荷显著降低, 并未观察到严重不良反应。这表明 CAR-NK 细胞在面对复杂的 TME 时仍然能够发挥一定的抗肿瘤作用。在另一项试验 (NCT05410717) 中, CAR-NK 细胞通过靶向间皮素 (mesothelin, MSLN) 显示了对胰腺癌和卵巢癌等实体瘤的抗肿瘤活性。这些初步研究为进一步探索 CAR-NK 细胞在实体瘤中的治疗潜力奠定了基础。然而, 与血液系统恶性肿瘤相比, CAR-NK 细胞在实体瘤中的疗效有限, 这与 TME 的免疫抑制和肿瘤抗原的表达异质性有关。

CAR-NK 细胞疗法在临床应用中的一个显著优势是其良好的安全性。与 CAR-T 细胞疗法相比, CAR-NK 细胞引发 CRS 和神经毒性的风险显著降低^[42-44]。例如, 在多项临床试验中, CAR-NK 细胞的应用未出现严重的免疫相关不良反应。这一特点使 CAR-NK 细胞疗法成为针对高风险患者的一种更安全的选择, 尤其是在免疫功能受损或 T 细胞相关疗法禁忌的情况下。此外, CAR-NK 细胞疗法的联合策略也在临床研究中展现出良好的前景。例如, 将 CAR-NK 细胞与免疫检查点抑制剂联合使用, 可以增强其在 TME 中的抗肿瘤效应。在 NCT04050709 试验中, CAR-NK 细胞靶向 PD-L1 的设计进一步优化了其在免疫抑制微环境中的效能。此外, 结合细胞因子 (如 IL-15、IL-21) 的策略显著提高了 CAR-NK 细胞体内的持久性和扩增能力, 为克服其体内短暂性提供了解决方案^[40-41, 45]。

综上, CAR-NK 细胞疗法在血液系统恶性肿瘤的治疗中已展现出显著的疗效, 在实体瘤领域也初步显示出可观的治疗潜力。未来的研究需要进一步优化 CAR 设计、增强 NK 细胞的持久性, 探索与多种疗法联合以扩大其临床应用范围并提高治疗效果。

4 CAR-NK 细胞疗法的挑战

CAR-NK 细胞在体内的持久性问题是其在临床应用中面临的首要挑战。相比 CAR-T 细胞, NK 细胞的体内存活时间和增殖能力相对较弱, 显著限制了 CAR-NK 细胞疗法的长期抗肿瘤效能。NK 细胞的自然寿命通常较短, 体内存活时间约为 7~10 d, 这使其难以在慢性或广泛转移的实体瘤中发挥持续抗肿瘤作用^[46]。此外, CAR 修饰技术虽然赋予了 NK 细胞靶向识别能力, 但并未显著改变其固有的持久性不足的特征, 导致 CAR-NK 细胞在 TME 中迅速耗竭。研究^[47]发现, NK

细胞的持久性与其代谢状态密切相关。TME 中营养物质和氧气的匮乏会显著抑制 NK 细胞的代谢活性, 降低其增殖能力和限制其功能状态^[48]。尤其是在实体瘤中, NK 细胞的线粒体功能受到显著损害, 导致细胞内 ATP 生成不足, 从而加速其凋亡^[49]。针对这一问题, 研究者^[45]尝试通过基因修饰增强 NK 细胞的代谢适应性, 例如表达 IL-15 或 IL-15 受体的 CAR-NK 细胞在多项研究中显示出延长的存活时间和更高的扩增能力。IL-15 通过促进 NK 细胞的代谢重编程和线粒体功能优化, 为其提供了必要的能量支持, 从而改善了其体内持久性^[50]。CAR-NK 细胞的持久性还受到体内免疫系统的限制。现货化异体 CAR-NK 细胞可能被宿主免疫系统识别并清除, 这进一步缩短了其作用时间。近年来, 研究者^[51]开发了来自 iPSC 的 CAR-NK 细胞, 通过基因编辑去除宿主识别位点或添加免疫抑制分子, 显著延长了其在体内的存活时间。上述研究为解决 NK 细胞持久性不足的问题提供了重要的方向, 但仍需进一步优化以实现长期稳定的治疗效果。

TME 的免疫抑制特性是阻碍 CAR-NK 细胞在实体瘤中发挥效能的关键因素之一^[52]。实体瘤的 TME 中存在大量的免疫抑制因子, 如 TGF- β 、IL-10 和腺苷等, 这些分子通过多种途径减弱 NK 细胞的活性^[53]。例如, TGF- β 能够通过下调 NK 细胞激活受体 (如 NKG2D、NKP30) 的表达, 直接抑制 NK 细胞的杀伤能力^[54]。此外, 腺苷通过结合 A2AR 受体抑制 NK 细胞的成熟和效应功能, 进一步降低其抗肿瘤效能^[55]。TME 的低氧状态也是 NK 细胞功能受限的重要原因。低氧条件会引发肿瘤细胞分泌更多的免疫抑制因子, 同时导致 NK 细胞受体表达的下调和代谢紊乱^[56]。研究^[57]表明, 低氧条件通过激活 HIF-1 α 信号通路显著减少了 NK 细胞激活受体的表达。这种代谢失调显著削弱了 NK 细胞的细胞毒性。此外, TME 中高浓度的乳酸还会降低 NK 细胞的活性^[58]。乳酸通过降低 NK 细胞内的 pH 值和线粒体功能, 进一步削弱了其效能^[59]。针对这一问题, 研究者^[60-61]正在开发靶向 TME 的联合治疗策略, 例如通过使用 TGF- β 抗体或 A2AR 抑制剂, 可以部分恢复 NK 细胞的活性。这些干预措施尽管在临床前研究中显示了积极的效果, 但在实际应用中仍面临药物副作用和靶向选择性的问题。

肿瘤的免疫逃逸机制是 CAR-NK 细胞疗法在实体瘤治疗中无效的另一个重要原因。实体瘤中的肿瘤细胞常通过下调或完全丧失靶向抗原的表达, 逃避 CAR-NK 细胞的识别和杀伤。这种抗原异质性不仅显著降低了 CAR-NK 细胞的治疗效果, 还增加了治疗失败的风险。例如, NKG2D 配体 (如 MICA/B 和 ULBP) 的表达在许多肿瘤中呈高度异质性^[62]。一些肿瘤细胞通过分泌可溶性

NKG2D配体来削弱NK细胞的识别能力,同时招募免疫抑制性细胞(如MDSC和Treg细胞)以进一步限制NK细胞的活性^[63]。研究^[20]发现,MDSC中高表达的NKG2DL能够通过竞争性结合NKG2D削弱NK细胞的功能。这一机制导致CAR-NK细胞疗法在清除实体瘤细胞时面临挑战,尤其是在肿瘤细胞表面抗原表达发生动态变化的情况下,难于实现彻底清除肿瘤细胞的目的。为应对这一挑战,研究者^[64]研发了多靶点CAR-NK细胞,通过识别多个抗原来提高治疗效果。例如,双靶点CAR设计结合了两种独立的抗原识别域,可以同时靶向两种肿瘤相关抗原,从而克服抗原丢失导致的免疫逃逸。此外,逻辑门控型CAR结构(logic-gated CAR structure),如AND和OR门控设计,也被用于增强对异质性肿瘤的识别^[65]。这些策略在临床前研究中已取得积极进展,但其复杂的设计和高昂的生产成本仍是其进一步临床应用的主要障碍。

5 展 望

CAR-NK细胞疗法为实体瘤治疗开辟了崭新的路径,但在临床应用中仍须应对诸多挑战。未来的研究需要从以下几个关键方向进行深入探索,以进一步提升CAR-NK细胞疗法在肿瘤治疗中的有效性、安全性和可及性。

5.1 CAR-NK细胞疗法在特殊肿瘤患者中的潜在应用

具有自身免疫病合并肿瘤患者和器官移植术后新发肿瘤患者,由于长期使用免疫抑制剂,导致免疫监视和防御功能显著下降,成为肿瘤的高危人群^[66]。然而,基于T细胞的免疫疗法在这类患者中通常难以实施。免疫抑制剂不仅削弱T细胞功能,使过继细胞治疗失效,还可能因T细胞的过度激活引发自身免疫病恶化或器官排斥反应。相较之下,CAR-NK细胞因其对多种免疫抑制剂具有较高的耐受性而展现出独特的优势。NK细胞的杀伤活性不依赖NFAT信号通路,因此不受钙调磷酸酶抑制剂的影响^[67-68]。然而,针对这类患者的CAR-NK细胞疗法也存在ADCC相关风险,特别是在抗体介导的自身免疫病或移植排斥反应风险较高的患者中。为规避这一问题,可使用CD16阴性的NK-92细胞作为底盘细胞,或通过基因编辑敲除CD16的iPSC来源CAR-NK细胞,从而在维持抗肿瘤效能的同时显著降低ADCC相关的不良反应。

5.2 基于NK细胞特性开发新型CAR结构

基于NK细胞的独特生物学功能,开发专门适配其活化和效应机制的新型CAR结构。与T细胞不同,NK细胞的活化依赖于激活受体与抑制受体之间的信号平衡,这一特性决定了NK-CAR设计需要更加注重

信号转导的精准调控。目前研究^[69-70]已表明,在CAR结构中引入NK细胞特异性信号分子,如DAP10和DAP12,可显著增强NK细胞的杀伤活性。然而,哪种信号组合最适宜激活NK细胞并维持其功能的持久性和稳定性仍需深入探讨。为更高效地筛选和优化NK-CAR的设计,近年来提出了一些创新性的策略。例如,利用“DNA洗牌”技术对CAR胞内信号段进行随机化组合筛选,可加速发现与NK细胞活化高度适配的信号模块。此外,借助基于深度学习和神经网络的转录组数据分析,可从大规模结构预测和功能关联研究中识别最优的NK-CAR设计方案。这些技术为NK-CAR结构的创新开发提供了强大的工具支持,有望推动NK细胞免疫疗法的临床转化和广泛应用。

5.3 CAR-NK细胞与其他免疫疗法联合

CAR-NK细胞因其具有现货化生产、广泛通用性及良好的安全性等特点,展现出作为多功能免疫治疗工具的巨大潜力。从免疫学机制来看,TME中的MDSC高度表达NKG2D配体,可被NKG2D CAR-NK细胞特异性识别并介导清除,从而减弱免疫抑制效应、增强其他效应细胞的抗肿瘤功能^[71]。通过减轻TME中的抑制性信号,NKG2D CAR-NK细胞可显著提升免疫检查点阻断疗法的疗效。此外,CAR-NK细胞还可作为CAR-T细胞疗法的序贯治疗工具,通过靶向成纤维细胞活化蛋白 α 的CAR-NK细胞预清除肿瘤相关成纤维细胞重塑微环境,从而优化CAR-T细胞在肿瘤中的渗透与效应^[72]。CAR-NK细胞的另一重要功能是分泌多种趋化因子,这些因子可吸引DC向肿瘤部位聚集,增强抗原提呈能力并激活适应性免疫系统^[73]。这一特性使CAR-NK细胞与DC疫苗的联合应用成为可能,通过先激活固有免疫,再进一步激发适应性免疫,形成协同抗肿瘤效应,显著提升免疫系统对肿瘤的监视和清除能力。CAR-NK细胞的趋化因子分泌功能还可与诱导免疫原性细胞死亡的化疗药物联合使用。此类化疗药物可增加肿瘤相关抗原的暴露范围,与CAR-NK细胞的作用机制相辅相成,从而激发更广泛的免疫应答。

5.4 改造CAR宿主NK细胞

CAR-NK细胞的优化改造是提升CAR-NK细胞疗法效果的重要方向。针对实体瘤中复杂的免疫抑制微环境和细胞迁移障碍,目前有多种改造策略。为克服实体瘤微环境中的趋化屏障,可根据肿瘤细胞分泌的趋化因子谱,在NK细胞中引入对应的趋化因子受体^[74],从而提高CAR-NK细胞在肿瘤内的浸润效率。为提升NK细胞在恶劣代谢环境中的适应能力,可通过代谢工程改造来增强其能量利用效率。借助CRISPR/Cas9技术对NK细胞进行全基因组筛选,是发现增强NK细胞功能驱动基因的重要手段^[75]。

通过结合上述多种细胞工程化改造技术,未来的CAR-NK细胞将更适应复杂的TME,表现出更强的肿瘤浸润能力、更持久的效应时间和更高效的杀伤活性,为攻克实体瘤治疗中的难题提供强有力的工具。

[参 考 文 献]

- [1] ESHHAR Z, WAKS T, GROSS G, *et al.* Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(2): 720-724. DOI:10.1073/pnas.90.2.720.
- [2] LABANIEH L, MACKALL C L. CAR immune cells: design principles, resistance and the next generation[J]. *Nature*, 2023, 614 (7949): 635-648. DOI:10.1038/s41586-023-05707-3.
- [3] 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.
- [4] NEELAPU S, LOCKE F, BARTLETT N, *et al.* Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2019, 377: 2531-2544. DOI:10.1056/NEJMoa1707447.
- [5] QIN V M, D' SOUZA C, NEESON P J, *et al.* Chimeric antigen receptor beyond CAR-T cells[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(3): 404[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33499101/>. DOI: 10.3390/cancers13030404.
- [6] PATEL S, BURGA R A, POWELL A B, *et al.* Beyond CAR T cells: other cell-based immunotherapeutic strategies against cancer[J/OL]. *Front Oncol*, 2019, 9: 196[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31024832/>. DOI:10.3389/fonc.2019.00196.
- [7] HERBERMAN R B, NUNN M E, HOLDEN H T, *et al.* Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. II. Characterization of effector cells[J]. *Int J Cancer*, 1975, 16(2): 230-239. DOI:10.1002/ijc.2910160205.
- [8] HERBERMAN R B, NUNN M E, LAVRIN D H. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic acid allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity[J]. *Int J Cancer*, 1975, 16(2): 216-229. DOI:10.1002/ijc.2910160204.
- [9] KIESSLING R, KLEIN E, PROSS H, *et al.* "Natural" killer cells in the mouse. II. cytotoxic cells with specificity for mouse moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell[J]. *Eur J Immunol*, 1975, 5(2): 117-121. DOI:10.1002/eji.1830050209.
- [10] KIESSLING R, KLEIN E, WIGZELL H. "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse moloney leukemia cells. specificity and distribution according to genotype[J]. *Eur J Immunol*, 1975, 5(2): 112-117. DOI:10.1002/eji.1830050208.
- [11] KÄRRE K. Natural killer cell recognition of missing self[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(5): 477-480. DOI:10.1038/ni0508-477.
- [12] XIE G Z, DONG H, LIANG Y, *et al.* CAR-NK cells: a promising cellular immunotherapy for cancer[J/OL]. *eBioMedicine*, 2020, 59: 102975[2025-01-05]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102975>. DOI:10.1016/j.ebiom.2020.102975.
- [13] LIN X, SUN Y, DONG X, *et al.* iPSC-derived CAR-NK cells for cancer immunotherapy[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115123[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37406511/>. DOI:10.1016/j.biopha.2023.115123.
- [14] ZHANG L S, MENG Y, FENG X M, *et al.* CAR-NK cells for cancer immunotherapy: from bench to bedside[J/OL]. *Biomark Res*, 2022, 10(1): 12[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35303962/>. DOI:10.1186/s40364-022-00364-6.
- [15] ORANGE J S. Formation and function of the lytic NK-cell immunological synapse[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(9): 713-725. DOI:10.1038/nri2381.
- [16] BAGINSKA J, VIRY E, PAGGETTI J, *et al.* The critical role of the tumor microenvironment in shaping natural killer cell-mediated anti-tumor immunity[J/OL]. *Front Immunol*, 2013, 4: 490[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24400010/>. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00490.
- [17] PAN K, FARRUKH H, CHITTEPU V C S R, *et al.* CAR race to cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR macrophage therapy [J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 119[2025-01-05]. <http://dx.doi.org/10.1186/s13046-022-02327-z>. DOI:10.1186/s13046-022-02327-z.
- [18] PRAGER I, WATZL C. Mechanisms of natural killer cell-mediated cellular cytotoxicity[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(6): 1319-1329. DOI:10.1002/JLB.MR0718-269R.
- [19] ZINGONI A, VULPIS E, NARDONE I, *et al.* Targeting NKG2D and NKp30 ligands shedding to improve NK cell-based immunotherapy[J]. *Crit Rev Immunol*, 2016, 36(6): 445-460. DOI:10.1615/critrevimmunol.2017020166.
- [20] DUAN S X, GUO W H, XU Z X, *et al.* Natural killer group 2D receptor and its ligands in cancer immune escape[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 29[2025-01-05]. <http://dx.doi.org/10.1186/s12943-019-0956-8>. DOI:10.1186/s12943-019-0956-8.
- [21] WU X Y, LI T H, JIANG R, *et al.* Targeting MHC- I molecules for cancer: function, mechanism, and therapeutic prospects[J/OL]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 194[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38041084/>. DOI:10.1186/s12943-023-01899-4.
- [22] BEELEN N A, VALCKX V T C, BOS G M J, *et al.* Interfering with KIR and NKG2A immune checkpoint axes to unleash NK cell immunotherapy[J/OL]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2024, 37(3): 101568[2025-01-05]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.beha.2024.101568>. DOI:10.1016/j.beha.2024.101568.
- [23] WU S Y, FU T, JIANG Y Z, *et al.* Natural killer cells in cancer biology and therapy[J/OL]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 120[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32762681/>. DOI: 10.1186/s12943-020-01238-x.
- [24] OBERSCHMIDT O, KLOESS S, KOEHL U. Redirected primary human chimeric antigen receptor natural killer cells as an "off-the-shelf immunotherapy" for improvement in cancer treatment[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 654[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28649246/>. DOI:10.3389/fimmu.2017.00654.
- [25] FRAZAO A, RETHACKER L, MESSAOUDENE M, *et al.* NKG2D/NKG2L-ligand pathway offers new opportunities in cancer treatment [J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 661[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30984204/>. DOI:10.3389/fimmu.2019.00661.
- [26] SANCHEZ-CORREA B, VALHONDO I, HASSOUNEH F, *et al.* DNAM-1 and the TIGIT/PVRIG/TACTILE axis: novel immune checkpoints for natural killer cell-based cancer immunotherapy[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6): E877[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31234588/>. DOI:10.3390/cancers11060877.

- [27] ZHANG C, HU Y, XIAO W H, *et al.* Chimeric antigen receptor- and natural killer cell receptor-engineered innate killer cells in cancer immunotherapy[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(9): 2083-2100. DOI:10.1038/s41423-021-00732-6.
- [28] PEIPP M, KLAUSZ K, BOJE A S, *et al.* Immunotherapeutic targeting of activating natural killer cell receptors and their ligands in cancer[J]. *Clin Exp Immunol*, 2022, 209(1): 22-32. DOI:10.1093/cei/uxac028.
- [29] WANG W K, LIU Y, HE Z, *et al.* Breakthrough of solid tumor treatment: CAR-NK immunotherapy[J/OL]. *Cell Death Discov*, 2024, 10: (1): 40[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38245520/>. DOI:10.1038/s41420-024-01815-9.
- [30] VIVIER E, RAULET D H, MORETTA A, *et al.* Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells[J]. *Science*, 2011, 331(6013): 44-49. DOI:10.1126/science.1198687.
- [31] FANG F, XIAO W H, TIAN Z G. Challenges of NK cell-based immunotherapy in the new era[J]. *Front Med*, 2018, 12(4): 440-450. DOI:10.1007/s11684-018-0653-9.
- [32] YANG Y, BADETI S, TSENG H C, *et al.* Superior expansion and cytotoxicity of human primary NK and CAR-NK cells from various sources *via* enriched metabolic pathways[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2020, 18: 428-445. DOI:10.1016/j.omtm.2020.06.014.
- [33] DEL ZOTTO G, MARCENARO E, VACCA P, *et al.* Markers and function of human NK cells in normal and pathological conditions [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2017, 92(2): 100-114. DOI:10.1002/cyto.b.21508.
- [34] BERGMAN H, SISSALA N, HÄGERSTRAND H, *et al.* Human NK-92 cells function as target cells for human NK cells-implications for CAR NK-92 therapies[J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(10): 5355-5359. DOI:10.21873/anticancer.14543.
- [35] SUCK G, ODENDAHL M, NOWAKOWSKA P, *et al.* NK-92: an ‘off-the-shelf therapeutic’ for adoptive natural killer cell-based cancer immunotherapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65(4): 485-492. DOI:10.1007/s00262-015-1761-x.
- [36] SANCHEZ C E, DOWLATI E P, GEIGER A E, *et al.* NK cell adoptive immunotherapy of cancer: evaluating recognition strategies and overcoming limitations[J]. *Transplant Cell Ther*, 2021, 27(1): 21-35. DOI:10.1016/j.bbmt.2020.09.030.
- [37] VERNERIS M R, MILLER J S. The phenotypic and functional characteristics of umbilical cord blood and peripheral blood natural killer cells[J]. *Br J Haematol*, 2009, 147(2): 185-191. DOI:10.1111/j.1365-2141.2009.07768.x.
- [38] DAMELE L, SPAGGIARI G M, PARODI M, *et al.* Cord blood-derived natural killer cell exploitation in immunotherapy protocols: more than a promise?[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(18): 4439 [2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36139598/>. DOI: 10.3390/cancers14184439.
- [39] HU Y, TIAN Z G, ZHANG C. Chimeric antigen receptor (CAR)-transduced natural killer cells in tumor immunotherapy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(2): 167-176. DOI:10.1038/aps.2017.125.
- [40] FANG F, XIE S Q, CHEN M H, *et al.* Advances in NK cell production[J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(4): 460-481. DOI: 10.1038/s41423-021-00808-3.
- [41] PITTARI G, FILIPPINI P, GENTILCORE G, *et al.* Revving up natural killer cells and cytokine-induced killer cells against hematological malignancies[J/OL]. *Front Immunol*, 2015, 6: 230 [2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26029215/>. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00230.
- [42] LIU E, MARIN D, BANERJEE P, *et al.* Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(6): 545-553. DOI:10.1056/nejmoa1910607.
- [43] PIHA-PAUL S A, MAHALINGAM D, MULCAHY M F, *et al.* 1006P ACE1702, a first-in-class, off-the-shelf, selected natural killer cell [oNK] product using antibody cell conjugation technology [ACC], with pre-clinical and early clinical activity in HER2 < 3+ tumors[J/OL]. *Ann Oncol*, 2021, 32: S851[2025-01-05]. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.1390>. DOI: 10.1016/j.annonc.2021.08.1390.
- [44] MARIN D, LI Y, BASAR R, *et al.* Safety, efficacy and determinants of response of allogeneic CD19-specific CAR-NK cells in CD19⁺ B cell tumors: a phase 1/2 trial[J]. *Nat Med*, 2024, 30(3): 772-784. DOI:10.1038/s41591-023-02785-8.
- [45] LIU E, TONG Y, DOTTI G, *et al.* Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity[J]. *Leukemia*, 2018, 32(2): 520-531. DOI:10.1038/leu.2017.226.
- [46] MILLER J S, SOIGNIER Y, PANOSKALTSIS-MORTARI A, *et al.* Successful adoptive transfer and *in vivo* expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer[J]. *Blood*, 2005, 105(8): 3051-3057. DOI:10.1182/blood-2004-07-2974.
- [47] MICHELET X, DYCK L, HOGAN A, *et al.* Metabolic reprogramming of natural killer cells in obesity limits antitumor responses[J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(12): 1330-1340. DOI:10.1038/s41590-018-0251-7.
- [48] 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.
- [49] CONG J, WANG X, ZHENG X, *et al.* Dysfunction of natural killer cells by FBP1-induced inhibition of glycolysis during lung cancer progression[J]. *Cell Metab*, 2018, 28(2): 243-255.e5. DOI:10.1016/j.cmet.2018.06.021.
- [50] TERRÉN I, SANDÁ V, AMARILLA-IRUSTA A, *et al.* IL-12/15/18-induced cell death and mitochondrial dynamics of human NK cells [J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1211839[2025-01-05]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1211839>. DOI:10.3389/fimmu.2023.1211839.
- [51] COOPER M L, CHOI J, STASER K, *et al.* An “off-the-shelf” fratricide-resistant CAR-T for the treatment of T cell hematologic malignancies[J]. *Leukemia*, 2018, 32(9): 1970-1983. DOI:10.1038/s41375-018-0065-5.
- [52] MELAIU O, LUCARINI V, CIFALDI L, *et al.* Influence of the tumor microenvironment on NK cell function in solid tumors[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 3038[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32038612/>. DOI:10.3389/fimmu.2019.03038.
- [53] HÄUSLER S F, MONTALBÁN DEL BARRIO I, STROHSCHNEIN J, *et al.* Ectonucleotidases CD39 and CD73 on OvCA cells are potent adenosine-generating enzymes responsible for adenosine receptor 2A-dependent suppression of T cell function and NK cell cytotoxicity[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(10): 1405-1418. DOI:10.1007/s00262-011-1040-4.
- [54] TROTTA R, COL J D, YU J H, *et al.* TGF-beta utilizes SMAD3 to inhibit CD16-mediated IFN-gamma production and antibody-

- dependent cellular cytotoxicity in human NK cells[J]. *J Immunol*, 2008, 181(6): 3784-3792. DOI:10.4049/jimmunol.181.6.3784.
- [55] YOUNG A, NGIOW S F, GAO Y, *et al*. A2AR adenosine signaling suppresses natural killer cell maturation in the tumor microenvironment [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(4): 1003-1016. DOI:10.1158/0008-5472.can-17-2826.
- [56] SCHILLING D, TETZLAFF F, KONRAD S, *et al*. A hypoxia-induced decrease of either MICA/B or Hsp70 on the membrane of tumor cells mediates immune escape from NK cells[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2015, 20(1): 139-147. DOI:10.1007/s12192-014-0532-5.
- [57] BALSAMO M, MANZINI C, PIETRA G, *et al*. Hypoxia downregulates the expression of activating receptors involved in NK-cell-mediated target cell killing without affecting ADCC[J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43(10): 2756-2764. DOI:10.1002/eji.201343448.
- [58] BRAND A, SINGER K, KOEHL G E, *et al*. LDHA-associated lactic acid production blunts tumor immunosurveillance by T and NK cells[J]. *Cell Metab*, 2016, 24(5): 657-671. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.08.011.
- [59] HARMON C, ROBINSON M W, HAND F, *et al*. Lactate-mediated acidification of tumor microenvironment induces apoptosis of liver-resident NK cells in colorectal liver metastasis[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(2): 335-346. DOI:10.1158/2326-6066.cir-18-0481.
- [60] ALVAREZ M, DUNAI C, KHUAT L T, *et al*. IL-2 and anti-TGF- β promote NK cell reconstitution and anti-tumor effects after syngeneic hematopoietic stem cell transplantation[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(11): E3189[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33138229/>. DOI:10.3390/cancers12113189.
- [61] BRAUNECK F, SEUBERT E, WELLBROCK J, *et al*. Combined blockade of TIGIT and CD39 or A2AR enhances NK-92 cell-mediated cytotoxicity in AML[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12919[2025-01-05]. <https://doi.org/10.3390/ijms222312919>. DOI: 10.3390/ijms222312919.
- [62] FERRARI DE ANDRADE L, TAY R E, PAN D, *et al*. Antibody-mediated inhibition of MICA and MICB shedding promotes NK cell-driven tumor immunity[J]. *Science*, 2018, 359(6383): 1537-1542. DOI:10.1126/science.aao0505.
- [63] ZALFA C, PAUST S. Natural killer cell interactions with myeloid derived suppressor cells in the tumor microenvironment and implications for cancer immunotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 633205[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34025641/>. DOI:10.3389/fimmu.2021.633205.
- [64] GENBLER S, BURGER M C, ZHANG C, *et al*. Dual targeting of glioblastoma with chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells overcomes heterogeneity of target antigen expression and enhances antitumor activity and survival[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1119354[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27141401/>. DOI:10.1080/2162402x.2015.1119354.
- [65] FRANKEL N W, DENG H, YUCEL G, *et al*. Precision off-the-shelf natural killer cell therapies for oncology with logic-gated gene circuits[J]. *Cell Rep*, 2024, 43(5): 114145[2025-01-05]. DOI: 10.1016/j.celrep.2024.114145.
- [66] GIGLHUBER K, BERTHELE A. Adverse events in NMOSD therapy [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(8): 4154[2025-01-05]. <https://doi.org/10.3390/ijms23084154>. DOI:10.3390/ijms23084154.
- [67] MARKUS P M, VAN DEN BRINK M R M, LUCHS B A, *et al*. Effects of *in vivo* treatment with flk506 on natural killer cells in rats [J]. *Transplantation*, 2008, 85(4): 913-914. DOI: 10.1097/00007890-199104000-00037.
- [68] WAI L E, FUJIKI M, TAKEDA S, *et al*. Rapamycin, but not cyclosporine or FK506, alters natural killer cell function[J]. *Transplantation*, 2008, 85(1): 145-149. DOI:10.1097/01.tp.0000296817.28053.7b.
- [69] ZHENG L, REN L, KOUHI A, *et al*. A humanized lym-1 CAR with novel DAP10/DAP12 signaling domains demonstrates reduced tonic signaling and increased antitumor activity in B-cell lymphoma models [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(14): 3694-3706. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-19-3417.
- [70] LIU K, CUI J J, ZHAN Y, *et al*. Reprogramming the tumor microenvironment by genome editing for precision cancer therapy [J/OL]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 98[2025-01-05]. <http://dx.doi.org/10.1186/s12943-022-01561-5>. DOI:10.1186/s12943-022-01561-5.
- [71] WANG J, LIU X, JI J, *et al*. Orthotopic and heterotopic murine models of pancreatic cancer exhibit different immunological microenvironments and different responses to immunotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 863346[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35874730/>. DOI:10.3389/fimmu.2022.863346.
- [72] GLABMAN R A, CHOYKE P L, SATO N. Cancer-associated fibroblasts: tumorigenicity and targeting for cancer therapy[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(16): 3906[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36010899/>. DOI:10.3390/cancers14163906.
- [73] XIE N, SHEN G B, GAO W, *et al*. Neoantigens: promising targets for cancer therapy[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 9[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36604431/>. DOI: 10.1038/s41392-022-01270-x.
- [74] TIAN Y M, XIE D Y, YANG L. Engineering strategies to enhance oncolytic viruses in cancer immunotherapy[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 117[2025-01-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35387984/>. DOI:10.1038/s41392-022-00951-x.
- [75] PENG L, RENAUER P A, SFERRUZZA G, *et al*. *In vivo* AAV-SB-CRISPR screens of tumor-infiltrating primary NK cells identify genetic checkpoints of CAR-NK therapy[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2024, 2024: Online ahead of print[2025-01-05]. <https://doi.org/10.1038/s41587-024-02282-4>. DOI:10.1038/s41587-024-02282-4.

[收稿日期] 2025-01-04

[修回日期] 2025-01-15

[本文编辑] 党瑞山