

CAR-T 细胞联合治疗在实体瘤中的研究进展

李晨光, 蒋敬庭

苏州大学附属第三医院肿瘤生物诊疗中心, 江苏省肿瘤免疫治疗工程技术研究中心, 苏州大学细胞治疗研究院, 江苏常州 213003

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

摘要: 嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) -T 细胞治疗是近 10 年来肿瘤免疫治疗的重大突破。CAR-T 细胞在血液系统恶性肿瘤中的突出疗效使其成为肿瘤治疗中最有前途的手段。然而对于实体瘤, 由于其有别于血液肿瘤的特点以及肿瘤微环境的影响, 使 CAR-T 细胞治疗在实体瘤中尚未取得令人满意的疗效。近年来肿瘤治疗方式呈现多元化的局面, 单一的治疗方式难以取得最佳的治疗效果, 联合治疗为肿瘤治疗带来新的发展。本文就 CAR 的结构及功能、CAR-T 细胞疗法的优点与困境以及联合治疗的研究进展作一综述。

关键词: 实体瘤; 嵌合抗原受体 -T 细胞; 联合治疗

免疫疗法在肿瘤治疗方面取得了实质性的突破。过继细胞疗法 (adoptive cell transfer therapy, ACT) 是肿瘤免疫治疗的一种形式, 是继手术、放疗、化疗和靶向治疗之后肿瘤治疗新的思路。嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) -T 细胞治疗属于 ACT, 是以 CAR 结构为基础, 将抗原抗体的高度亲和性和 T 细胞杀伤作用相结合, 通过基因修饰的手段, 使 T 细胞能够特异性识别肿瘤抗原并杀死肿瘤细胞。CAR-T 细胞疗法已经成功治疗了部分血液系统肿瘤患者, 然而目前对实体瘤的治疗效果仍然欠佳^[1-3]。因此, 有必要寻求新的策略攻克 CAR-T 细胞疗法治疗实体瘤的屏障。

1 CAR 结构及功能

CAR 由细胞外抗原靶向结构域、跨膜区和细胞内信号结构域组成, 当表达 CAR 的 T 细胞与其同源抗原结合时, 可使 T 细胞的效应功能发生非主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 限制性激活^[4]。细胞外抗原靶向域通常由针对肿瘤相关抗原的单克隆抗体的单链抗体 (single chain antibody fragment, scFv) 组成, 能与肿瘤抗原特异性结合。跨膜区由 I 型跨膜蛋白

[如白细胞分化抗原群 4 (cluster of differentiation 4, CD4)、CD8 和 CD28 等] 形成的跨膜序列组成, 可将 CAR 锚定在 T 细胞膜上。细胞内信号结构域通常由共刺激域及信号转导结构域组成, 胞内共刺激域通常来自 CD28 受体家族或肿瘤坏死因子受体家族, 可实现协同刺激分子和细胞内信号的双重活化, 使 T 细胞持续增殖并释放细胞因子。信号转导结构域发挥 T 细胞信号转导功能^[5]。

2 CAR-T 细胞疗法的优点

CAR-T 细胞治疗的关键是通过基因修饰使 T 细胞表达特殊设计的 CAR, 体外扩增后注入患者体内。通过与靶细胞表面抗原特异性结合的 CAR, CAR-T 细胞可以准确识别靶细胞并将其杀死, 从而达到治疗肿瘤的目的。CAR 结构使 T 细胞直接识别肿瘤细胞, 同时在胞内获得共刺激信号, 避免肿瘤细胞通过 MHC 下调而逃逸^[6]。同时 CAR 不仅能够识别肽类抗原, 还能识别糖类和糖脂类抗原^[7], 扩大肿瘤抗原靶点范围, 使得一种 CAR 可能对多种含有相同靶抗原的肿瘤有效。体外改造并扩增的 CAR-T 细胞回输到患者体内后继续增殖, 形成持续的杀伤力, 而且还通过释放细胞因子等方

基金项目: 国家重点研发资助项目 (2018YFC1313400); 国家自然科学基金海外及港澳学者合作研究基金项目 (31729001); 国家自然科学基金资助项目 (31570877); 江苏省重点研发计划专项资金项目 (BE2018645)

式趋化更多的免疫细胞参与抗肿瘤免疫,对预防肿瘤复发具有重要意义^[8]。因此,得益于CAR的结构,CAR-T细胞疗法具有传统肿瘤治疗所没有的精准性,同时由于其结构的可复制性和不同肿瘤抗原间的重复,使得其既能根据不同肿瘤特点开发不同的CAR,又能让一种CAR用于多个肿瘤的治疗。

3 实体瘤 CAR-T 治疗的困境

实体瘤自身特点及其复杂的免疫抑制性肿瘤微环境使CAR-T细胞治疗疗效仍不理想。致密的肿瘤间质和免疫抑制信号的存在构成了免疫细胞进入实体瘤的物理和化学屏障,限制了CAR-T细胞的浸润和穿透作用^[9]。在这种肿瘤微环境中,许多驱动免疫抑制的细胞可以渗透到实体瘤中,包括肿瘤相关巨噬细胞、髓源性抑制细胞和调节性T细胞。此外,细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4,CTLA-4)、程序性死亡受体-1(programmed death-1,PD-1)和程序性死亡受体配体-1(programmed death ligand-1,PD-L1)等免疫检查点途径也会降低抗肿瘤免疫力^[10]。实体瘤的特点是抗原表达异质性,虽然最初针对CAR-T细胞的单一抗原可以提供很高的应答率,但接受CAR-T细胞治疗的相当一部分患者的恶性肿瘤细胞显示部分或完全丧失靶抗原表达^[11]。有研究报道,CAR-T细胞治疗的胶质母细胞瘤患者复发的肿瘤中IL13RA2表达降低^[12]。此外,实体瘤抗原通常在正常组织中也有不同程度的表达。当CAR-T细胞与正常(非肿瘤)细胞上的靶向抗原结合时,就会产生肿瘤外毒性,可能导致各种器官系统(包括肺、血液系统和胃肠道系统)的紊乱,甚至危及生命^[13]。因此,实体瘤CAR-T细胞治疗的困境在于如何避免肿瘤抗原异质性、逆转肿瘤微环境的免疫抑制作用和提高CAR-T细胞的持续作用及浸润能力,同时减少可能产生的潜在不良反应。

目前多项研究试图突破实体瘤对CAR-T细胞治疗的限制,包括内在或外在修饰CAR结构^[14]、改变CAR分子的运输方向^[15]、寻找新的肿瘤抗原^[16]、促进CAR-T的归巢和聚集^[17]以及单细胞测序预测CAR治疗不良反应^[18]等。同时,基于多种不同且互补的抗肿瘤作用机制,联合免疫治疗领域的发展十分迅速^[19]。CAR-T细胞联合既有的一线治疗也越来越引起人们的重视。

4 CAR-T 细胞联合治疗的进展

4.1 CAR-T 细胞疗法联合免疫检查点抑制剂

免疫检查点抑制剂的出现是肿瘤免疫治疗的一大突破,但由于肿瘤免疫调节的复杂性及肿瘤异质性特点,单用免疫检查点抑制剂往往疗效欠佳或很快耐药。如何将CAR-T细胞疗法和免疫检查点抑制剂有效的联合是实现1+1>2效果的关键。这种联合方式包括单纯药物联用和工程化改造T细胞。前者如Cherkassky等^[20]在胸膜间皮瘤小鼠模型中发现,注射PD-1抗体能延缓M28z-CAR-T细胞的耗竭。在一项CAR-T细胞联合PD-1抗体的临床试验中,CAR-T细胞治疗后接受帕博利珠单抗(pembrolizumab)治疗的11例恶性间皮瘤患者中,8例疾病稳定(stable disease,SD)持续≥6个月,2例PET-CT检查提示肿瘤完全消失^[21]。这种联合方式易于操作实施,但需要多次给药,远期效果尚需进一步验证。此外有许多研究尝试通过基因编辑技术工程改造现有CAR-T细胞实现与免疫检查点抑制剂的联合。如使用反转录病毒载体设计含有共刺激分子的二代CAR,并通过短发夹RNA(short hairpin RNA,shRNA)下调PD-1表达能增强CAR-T抗肿瘤效果^[19]。Rafiq等^[22]设计的分泌PD-1阻断单链抗体的CAR-T细胞在实体瘤模型中提高了小鼠的存活率,其产生的ScFv可增强肿瘤微环境中特异性旁观者T细胞的功能。Hu等^[23]利用成簇规律间隔短回文重复(clustered regularly interspaced short palindromic repeats,CRISPR)/CRISPR相关蛋白9(CRISPR associated protein 9,Cas9)核糖核蛋白介导的编辑阻断PD-1,不仅可以增强Meso CAR-T细胞对肿瘤的控制,而且在一定程度上可以延缓CAR-T细胞治疗后的肿瘤复发。同样技术构建的PD-1阻断的CAR-T细胞在体外实验和临床前模型中证实对胶质母细胞瘤有生长抑制作用^[24-25]。此外,通过构建PD-1-CD28融合受体将PD-1介导的抑制逆转为CD28共刺激,亦或是设计由截短的PD-1的胞外区和CD28的跨膜和胞质信号区组成的嵌合开关受体,相较于单一的CAR-T细胞或PD-1抗体治疗,均提高疗效且未发生严重不良反应^[26-27]。然而这些CAR-T细胞依赖于传统CAR对肿瘤特异性抗原的识别,从而限制了其对异质性肿瘤的治疗效果。Qin等^[28]设计了PD-1的显性-阴性形式dPD1z(包含人PD-1的胞外区和跨膜区)和

针对 PD-L1 的 CAR 载体 (CARPD-L1z), 当这种 CAR-T 细胞遇到 PD-L1 配体时, 能将 CAR 结构中的抑制信号转换为激活信号, 而且能够清除表达 PD-L1 的肿瘤细胞, 已在多种异种移植瘤模型中证实了其疗效, 但其潜在的靶外毒性仍需进一步研究。总之, CAR-T 细胞疗法联合免疫检查点抑制剂, 可有效改善 T 细胞耗竭并募集内源性免疫细胞, 增加其抗肿瘤效果, 同时部分联合方式还可克服肿瘤抗原异质性并减少抗原逃逸的可能性。

4.2 CAR-T 细胞疗法联合溶瘤病毒或疫苗

实体瘤 CAR-T 细胞治疗的一大限制在于缺乏肿瘤限制性抗原及均一表达的肿瘤抗原, 而溶瘤病毒克服了抗原处理和呈递方面的缺陷, 并进一步促进了肿瘤宿主中 T 细胞的启动和激活^[29]。因而溶瘤免疫疗法与 CAR-T 细胞疗法之间存在互补的基础。Park 等^[30] 设计一种溶瘤病毒 (OV19t), 可感染肿瘤细胞并在其表面产生截短的 CD19 (CD19t), OV19t 诱导了以肿瘤内源性和过继转移的 T 细胞为特征的局部免疫, CAR-T 细胞介导的肿瘤杀伤还可诱导死亡肿瘤细胞释放病毒, 从而促进 CD19t 在肿瘤中的表达。OV19t 和 CD19 CAR-T 细胞的联合治疗在多种实体瘤小鼠模型中取得显著疗效, 并表现出保护性抗肿瘤免疫力的延长。除了利用溶瘤病毒重定向 T 细胞外, 将携带趋化因子及细胞因子的溶瘤病毒与 CAR-T 联合使用也有不错的效果。临床前研究发现, 将 CAR-T 细胞与携带 T 细胞活化后表达和分泌的调节蛋白 (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted, RANTES) 和细胞因子白介素 -15 (interleukin-15, IL-15) 的溶瘤病毒结合起来, 溶瘤病毒可直接加速肿瘤细胞暴露于 CAR-T 细胞的 caspase 通路, 而 RANTES 和 IL-15 在瘤内的释放分别吸引 CAR-T 细胞并促进其局部存活, 从而提高荷瘤小鼠的总体存活^[31]。疫苗同样与 CAR-T 具有协同作用, Reinhard 等^[32] 创新性地引入脂质体运载的 RNA 疫苗, 证实 RNA 增强性疫苗可以有效地诱导 CAR-T 细胞的大量扩增, 提高 CAR-T 细胞对实体瘤的治疗效果, 且减少 CAR-T 细胞治疗的剂量和不良反应。这些研究为打破 CAR-T 细胞治疗实体瘤的屏障提供了新策略。

4.3 CAR-T 细胞疗法联合化疗

化疗被广泛应用于肿瘤治疗中, 作为传统的肿瘤治疗方式, 化疗不仅能直接杀死肿瘤细胞, 还能通过激活免疫系统引起肿瘤免疫原性细胞死亡,

包括增加抗原释放和新抗原产生、诱导肿瘤细胞发生自噬以及趋化免疫细胞浸润肿瘤组织等^[33], 既往细胞因子诱导杀伤细胞 (cytokine-induced killer, CIK) 免疫治疗联合化疗在 1 例广泛小细胞肺癌中取得较长的生存期, 为进一步探索化疗联合细胞治疗提供希望^[34]。一项针对非小细胞肺癌和三阴性乳腺癌的 ROR1 CAR-T 细胞临床试验中发现, 化疗药物奥沙利铂能够通过 CAR-T 细胞产生的 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 激活 M1 型巨噬细胞分泌趋化因子, 促进 T 细胞浸润至肿瘤部位^[35]。顺铂可上调肿瘤细胞表面 CD133 的表达, 同时促进细胞毒性 T 细胞分泌细胞因子, 联合 CD133 CAR-T 细胞能同时靶向正常和干细胞样胃癌细胞从而改善治疗效果^[36]。节律性环磷酸处理的 GL261 肿瘤释放 GL261 肿瘤特异性抗原, 与携带 T 细胞受体的 T 细胞克隆相互作用并使其转化为记忆 T 细胞^[37]。而 Klampatsa 等^[38] 发现, 小剂量的环磷酸预处理可降低肿瘤引流淋巴结和肿瘤中 CD4⁺ 调节性 T 细胞的频率, 依赖内源性 CD8⁺ T 细胞诱导旁观者效应使 CAR-T 细胞疗法克服肿瘤抗原普遍表达不足的问题。小鼠模型中证实, 使用环磷酸预处理后, 可延长靶向癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 的 CAR-T 细胞治疗小鼠的中位存活期^[39]。临床试验中, 环磷酸预处理后, 静脉输注 CEA CAR-T 细胞治疗肝转移的结直肠癌患者效果显著^[40]。目前, CAR-T 细胞治疗前进行化疗预处理已逐渐成为 CAR-T 细胞治疗标准模式, 但关键指征、合适的使用时间、剂量以及可能造成的免疫相关不良反应仍需进一步研究。

4.4 CAR-T 细胞疗法联合放疗

放疗已成为许多肿瘤治疗的重要手段, 适当的放疗能够通过激活免疫细胞、调节肿瘤微环境和释放死亡危险信号而激活免疫, 产生旁观者或远位效应。研究发现, 低剂量放疗使肿瘤细胞易于发生肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, TRAIL) 介导的凋亡, 唾液酸化路易斯 A 抗原 (sialyl Lewis-A, sLeA) 特异性 CAR-T 细胞在与靶点接触时会促进 TRAIL 蛋白的产生, 从而提高抗肿瘤效果^[41]。同时低剂量放疗使 sLeA⁻ 肿瘤细胞对 CAR-T 细胞治疗变得敏感, 从而减少抗原阴性肿瘤的复发^[41]。低剂量全身照射可有效增加肿瘤细胞的敏感性, 并以较低的 CAR-T 细胞剂量消除肿

瘤细胞, 在提高疗效的同时降低潜在细胞因子释放综合征的风险。临床前研究证实, 放疗通过促进靶向自然杀伤细胞受体 2 群 D 分子 (natural killer group 2 member D, NKG2D) 的 CAR-T 细胞向肿瘤部位迁移从而在原位胶质母细胞瘤小鼠模型中产生协同效应, 同时局部放疗诱导恶性肿瘤细胞上 NKG2D 配体的表达^[42]。因此, 适当的放疗可通过上调靶肿瘤抗原以及促凋亡和抗凋亡分子之间的失衡使肿瘤细胞对 CAR-T 细胞介导的裂解更加敏感。

4.5 CAR-T 细胞疗法联合靶向或表观遗传药物

近年来, 随着靶向更广泛的表观遗传学和免疫学靶点的小分子的发展以及对测序和免疫学技术更好的应用, 许多表观遗传药物和靶向药物相继被开发出来。这些药物通过上调理想肿瘤抗原表达以及克服肿瘤免疫微环境抑制作用提高 CAR-T 细胞抗肿瘤疗效。阿帕替尼作为一种新型酪氨酸激酶抑制剂, 与 CAR-T 细胞联用对晚期难治性卵巢癌具有潜在的治疗作用^[43]。组蛋白脱乙酰酶抑制剂辛二酰苯胺异羟肟酸 (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) 在体外可上调共刺激因子 B7 同源体 3 (costimulate molecules B7 homolog 3, B7-H3) 在人乳腺癌和头颈部鳞癌等实体瘤细胞上的转录表达以及人转基因 T 细胞膜上的 CAR 表达, 同时下调免疫抑制分子 Tet methylcytosine dioxygenase 2 (TET2) 和 CTLA-4 的表达; B7-H3 CAR-T 细胞联合 SAHA 治疗在乳腺癌和头颈部鳞癌等小鼠移植瘤模型中均显示出更强的抗肿瘤活性^[44]。吡啶胺 2,3- 双加氧酶 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO1) 作为一种限速酶, 可分解 CAR-T 细胞增殖活化必需的色氨酸^[45], miR-153 通过靶向其

在结肠癌细胞中的 3' 非翻译区直接抑制 IDO1 的表达, 从而增强 CAR-T 细胞体外杀伤能力, 其疗效已在小鼠结肠癌移植瘤模型中证实^[46]。胶质母细胞瘤的特点是血管异常, 对细胞治疗和抗血管生成治疗表现出很高的抵抗力, p21 激活激酶 4 (p21-activated kinase 4, PAK4) 是异常血管形成的选择性调节因子, 可增强血管通透性并减少 T 细胞与内皮的粘附, 一项表皮生长因子受体 VIII (epidermal growth factor receptor VIII, EGFRVIII) 导向的 CAR-T 细胞和 PAK4 抑制剂联合治疗的研究发现, 联用 PAK4 抑制剂可改善血管微环境促进 CAR-T 细胞浸润并增加其对胶质母细胞瘤的敏感性^[47]。GSK2816126A (GSK126) 通过抑制 Zeste 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2), 诱导尤文肉瘤细胞表面表达双唾液酸神经节苷脂 (disialoganglioside, GD2) 从而提高 GD2 CAR-T 细胞治疗尤文肉瘤的疗效^[48]。因此, 通过联用这些表观遗传或靶向药物可有效克服肿瘤抗原异质性及中和肿瘤抑制性微环境, 同时, 针对不同肿瘤特点以及肿瘤免疫循环中的关键过程开发出相应的治疗药物, 联用这些药物将为 CAR-T 细胞疗法带来新的希望。

上述联合治疗研究简单列举于表 1^[43-44, 46-48]。

5 展望

CAR-T 细胞治疗作为一种新型的肿瘤免疫治疗方式, 具有独特的优点, 在难治性或复发性 B 细胞恶性肿瘤患者中已经取得持久的抗肿瘤反应。但由于实体瘤本身的特点以及肿瘤微环境的影响, CAR-T 细胞治疗在实体瘤领域仍面临困境。单一

表 1 CAR-T 细胞联合靶向或表观遗传药物治疗的研究

肿瘤类型	药物名称	作用机制	CAR-T 细胞靶点	参考文献
卵巢癌	阿帕替尼	高度选择性竞争细胞 VEGFR-2 的 ATP 结合位点, 抑制肿瘤血管生成	MSLN	[43]
乳腺癌和头颈部鳞癌	SAHA	上调肿瘤细胞抗原表达及 T 细胞 CAR 表达, 下调免疫抑制分子表达	B7-H3	[44]
结肠癌	miR-153	靶向在结肠癌细胞中的 3' 非翻译区直接抑制 IDO1 的表达	EGFRVIII	[46]
胶质母细胞瘤	KPT9274	抑制 PAK4, 抑制肿瘤异常血管生成, 改善血管微环境, 提高 CAR-T 细胞治疗敏感性	EGFRVIII	[47]
尤文肉瘤	GSK126	抑制 EZH2, 降低 H3K27 的甲基化, 诱导尤文肉瘤细胞 GD2 的表面表达	GD2	[48]

注 CAR: 嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor); VEGFR-2: 血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2); ATP: 腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate); MSLN: 间皮素 (mesothelin); SAHA: 辛二酰苯胺异羟肟酸 (suberoylanilide hydroxamic acid); B7-H3: 共刺激因子 B7 同源体 3 (costimulate molecules B7 homolog 3); IDO1: 吡啶胺 2,3- 双加氧酶 1 (indoleamine 2,3-dioxygenase 1); EGFR VIII: 表皮生长因子受体 VIII (epidermal growth factor receptor VIII); PAK4: p21 激活激酶 4 (p21-activated kinase 4); EZH2: Zeste 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2); H3K27: 组蛋白 H3 第 27 位赖氨酸 (lysine 27 of histone H3); GD2: 双唾液酸神经节苷脂 (disialoganglioside)

的 CAR-T 细胞治疗方式目前对实体瘤效果欠佳, 其他肿瘤治疗 (包括化疗、放疗、免疫检查点抑制剂和溶瘤病毒) 与 CAR-T 细胞治疗存在互补的可能, 理想的组合将使 CAR-T 细胞的效力最大化, 为肿瘤患者带来治愈的希望。CAR-T 细胞联合治疗应根据肿瘤和患者的具体特征有针对性地选择, 在提高疗效的同时关注联合疗法可能带来不良反应的增加。随着相关临床试验的推进, CAR-T 细胞疗法联合其他治疗的未来也将更加明朗。

参考文献:

- [1] Tran E, Longo DL, Urba WJ. A milestone for CAR T cells[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(26): 2593-2596.
- [2] Halim L, Maher J. CAR T-cell immunotherapy of B-cell malignancy: the story so far[J]. *Ther Adv Vaccines Immunother*, 2020, 8: 2515135520927164.
- [3] Newick K, O'Brien S, Moon E, et al. CAR T cell therapy for solid tumors[J]. *Annu Rev Med*, 2017, 68: 139-152.
- [4] Guedan S, Calderon H, Posey AD Jr, et al. Engineering and design of chimeric antigen receptors[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2019, 12: 145-156.
- [5] Stoiber S, Cadilha BL, Benmebarek MR, et al. Limitations in the design of chimeric antigen receptors for cancer therapy[J]. *Cells*, 2019, 8(5): E472.
- [6] Ramos CA, Heslop HE, Brenner MK. CAR-T cell therapy for lymphoma[J]. *Annu Rev Med*, 2016, 67: 165-183.
- [7] Hillerdal V, Essand M. Chimeric antigen receptor-engineered T cells for the treatment of metastatic prostate cancer[J]. *BioDrugs*, 2015, 29(2): 75-89.
- [8] Wu C, Zhang LN, Brockman QR, et al. Chimeric antigen receptor T cell therapies for multiple myeloma[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 120.
- [9] Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy[J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 541-550.
- [10] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423-1437.
- [11] Shah NN, Fry TJ. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(6): 372-385.
- [12] Brown CE, Alizadeh D, Starr R, et al. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(26): 2561-2569.
- [13] Qu J, Mei Q, Chen LJ, et al. Chimeric antigen receptor (CAR)-T-cell therapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC): current status and future perspectives[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 70: 619-631.
- [14] Lee S, Wong WW. The most logical approach to improve CAR T cell therapy[J]. *Cell Syst*, 2020, 11(5): 421-423.
- [15] Li WT, Qiu SZ, Chen J, et al. Chimeric antigen receptor designed to prevent ubiquitination and downregulation showed durable antitumor efficacy[J]. *Immunity*, 2020, 53(2): 456-470.
- [16] Wei H, Wang Z, Kuang Y, et al. Intercellular adhesion molecule-1 as target for CAR-T-cell therapy of triple-negative breast cancer[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 573823.
- [17] Milner JJ, Toma C, Yu BF, et al. Runx3 programs CD8⁺ T cell residency in non-lymphoid tissues and tumours[J]. *Nature*, 2017, 552(7684): 253-257.
- [18] Ramakrishna S, Shah NN. Using single-cell analysis to predict CAR T cell outcomes[J]. *Nat Med*, 2020, 26(12): 1813-1814.
- [19] 章浙伟, 邵国良. 重视介入与靶向和免疫联合治疗在中晚期肝细胞癌中的应用前景[J]. *实用肿瘤杂志*, 2022, 37(3): 227-231.
- [20] Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, et al. Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(8): 3130-3144.
- [21] Adusumilli PS, Zauderer MG, Rivière I, et al. A phase I trial of regional mesothelin-targeted CAR T-cell therapy in patients with malignant pleural disease, in combination with the anti-PD-1 agent pembrolizumab[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(11): 2748-2763.
- [22] Rafiq S, Yeku OO, Jackson HJ, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy *in vivo*[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847-856.
- [23] Hu WH, Zi ZG, Jin YL, et al. CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances human mesothelin-targeted CAR T cell effector functions[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(3): 365-377.
- [24] Nakazawa T, Natsume A, Nishimura F, et al. Effect of CRISPR/Cas9-mediated PD-1-disrupted primary human third-generation CAR-T cells targeting EGFR^{III} on *in vitro* human glioblastoma cell growth[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 998.
- [25] Choi BD, Yu XL, Castano AP, et al. CRISPR-Cas9 disruption of PD-1 enhances activity of universal EGFR^{III} CAR T cells in a preclinical model of human glioblastoma[J]. *J Immunotherapy Cancer*, 2019, 7(1): 304.
- [26] Liu XJ, Ranganathan R, Jiang SG, et al. A chimeric switch-receptor targeting PD1 augments the efficacy of second-generation CAR T cells in advanced solid tu-

- mors[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(6): 1578–1590.
- [27] Kobold S, Grassmann S, Chaloupka M, et al. Impact of a new fusion receptor on PD-1-mediated immunosuppression in adoptive T cell therapy[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(8): djv146.
- [28] Qin L, Zhao RC, Chen DM, et al. Chimeric antigen receptor T cells targeting PD-L1 suppress tumor growth[J]. *Biomark Res*, 2020, 8: 19.
- [29] Bommareddy PK, Shettigar M, Kaufman HL. Integrating oncolytic viruses in combination cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(8): 498–513.
- [30] Park AK, Fong Y, Kim SI, et al. Effective combination immunotherapy using oncolytic viruses to deliver CAR targets to solid tumors[J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(559): eaaz1863.
- [31] Nishio N, Diaconu I, Liu H, et al. Armed oncolytic virus enhances immune functions of chimeric antigen receptor-modified T cells in solid tumors[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(18): 5195–5205.
- [32] Reinhard K, Rengstl B, Oehm P, et al. An RNA vaccine drives expansion and efficacy of claudin-CAR-T cells against solid tumors[J]. *Science*, 2020, 367(6476): 446–453.
- [33] Yuan J, Yuan XL, Wu KL, et al. A local and low-dose chemotherapy/autophagy-enhancing regimen treatment markedly inhibited the growth of established solid tumors through a systemic antitumor immune response[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 658254.
- [34] 刘通, 徐健, 许凝. CIK 细胞免疫治疗联合化疗治疗广泛期小细胞肺癌一例[J]. *实用肿瘤杂志*, 2021, 36(3): 218–221.
- [35] Srivastava S, Furlan SN, Jaeger-Ruckstuhl CA, et al. Immunogenic chemotherapy enhances recruitment of CAR-T cells to lung tumors and improves antitumor efficacy when combined with checkpoint blockade[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(2): 193–208.
- [36] Han Y, Sun B, Cai H, et al. Simultaneously target of normal and stem cells-like gastric cancer cells via cisplatin and anti-CD133 CAR-T combination therapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(10): 2795–2803.
- [37] Wu JJ, Waxman DJ. Metronomic cyclophosphamide eradicates large implanted GL261 gliomas by activating antitumor CD8⁺ T-cell responses and immune memory[J]. *OncoImmunology*, 2015, 4(4): e1005521.
- [38] Klampatsa A, Leibowitz MS, Sun J, et al. Analysis and augmentation of the immunologic bystander effects of CAR T cell therapy in a syngeneic mouse cancer model[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 18: 360–371.
- [39] Cha SE, Kujawski M, Yazaki PJ, et al. Tumor regression and immunity in combination therapy with anti-CEA chimeric antigen receptor T cells and anti-CEA-IL2 immunocytokine[J]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1899469.
- [40] Zhang CC, Wang Z, Yang Z, et al. Phase I escalating-dose trial of CAR-T therapy targeting CEA+ metastatic colorectal cancers[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(5): 1248–1258.
- [41] DeSelm C, Palomba ML, Yahalom J, et al. Low-dose radiation conditioning enables CAR T cells to mitigate antigen escape[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(11): 2542–2552.
- [42] Weiss T, Weller M, Guckenberger M, et al. NKG2D-based CAR T cells and radiotherapy exert synergistic efficacy in glioblastoma[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(4): 1031–1043.
- [43] Fang JM, Ding N, Guo XL, et al. α PD-1-mesoCAR-T cells partially inhibit the growth of advanced/refractory ovarian cancer in a patient along with daily apatinib[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(2): e001162.
- [44] Lei XY, Ou ZP, Yang ZH, et al. A pan-histone deacetylase inhibitor enhances the antitumor activity of B7-H3-specific CAR T cells in solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(13): 3757–3771.
- [45] Hennequart M, Pilote L, Cane S, et al. Constitutive IDO1 expression in human tumors is driven by cyclooxygenase-2 and mediates intrinsic immune resistance[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(8): 695–709.
- [46] Huang Q, Xia JJ, Wang L, et al. miR-153 suppresses IDO1 expression and enhances CAR T cell immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 58.
- [47] Ma WJ, Wang YL, Zhang RX, et al. Targeting PAK4 to reprogram the vascular microenvironment and improve CAR-T immunotherapy for glioblastoma[J]. *Nat Cancer*, 2021, 2(1): 83–97.
- [48] Kailayangiri S, Altvater B, Lesch S, et al. EZH2 inhibition in ewing sarcoma upregulates GD2 expression for targeting with gene-modified T cells[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(5): 933–946.

(收稿日期 : 2022-01-11)