

CAR-T疗法在胃癌中的研究进展

李桃^{1,2}, 崔童^{1,3}, 王建华²

¹西安医学院, 陕西 西安

²陕西省人民医院普外二科, 陕西 西安

³陕西省人民医院肿瘤内科, 陕西 西安

收稿日期: 2022年3月1日; 录用日期: 2022年3月25日; 发布日期: 2022年4月7日

摘要

嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)免疫疗法在血液系统肿瘤中取得显著成效之后, CAR-T疗法用于实体瘤亦逐渐成为研究热点。胃癌(GC)是最常见的消化道恶性肿瘤之一, 是全球第三大癌症相关死亡原因。对于缺乏手术适应症及放疗、化疗效果不好的患者, 迫切需要寻找新颖而高效的治疗方式。CAR-T疗法在胃癌的治疗中已取得一些成果, 不过也存在一些需要克服的障碍。本文综述了CAR-T疗法在胃癌中的治疗现状及面临的挑战。

关键词

嵌合抗原受体T细胞, 胃癌, 免疫治疗

Progress of CAR-T Therapy in Gastric Cancer

Tao Li^{1,2}, Tong Cui^{1,3}, Jianhua Wang²

¹Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

²Second Department of General Surgery, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an Shaanxi

³Department of Medical Oncology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an Shaanxi

Received: Mar. 1st, 2022; accepted: Mar. 25th, 2022; published: Apr. 7th, 2022

Abstract

Since chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) immunotherapy has achieved remarkable results in hematological tumors, CAR-T therapy has gradually become a hot topic in solid tumors. Gastric cancer is one of the most common types of cancer and the third leading cause of cancer-related death overall. It is urgent to find novel and efficient treatment methods for patients who lack surgical indications or those who with poor radiotherapy and chemotherapy outcomes. CAR-T therapy has made some achievements in the treatment of gastric cancer, but there are still some obstacles to overcome. This paper reviews the current status and challenges in CAR-T therapy for gastric cancer.

Keywords

Chimeric Antigen Receptor T Cell, Gastric Cancer, Immunotherapy

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

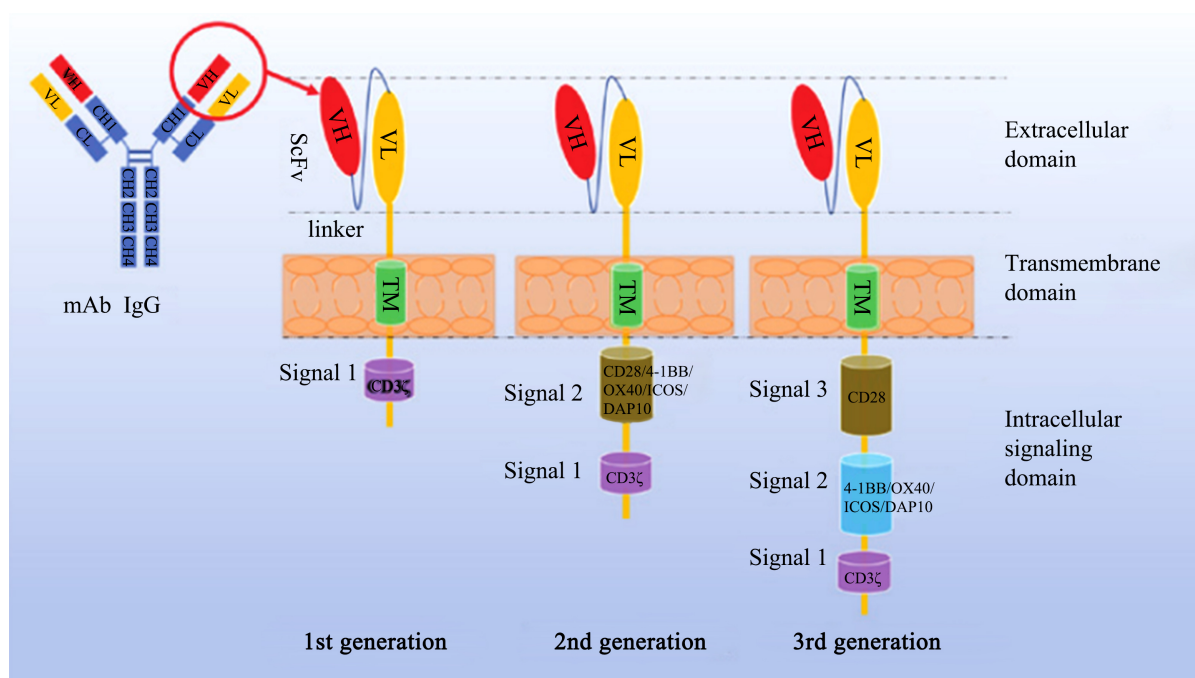
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. CAR-T 疗法的结构和发展

CAR 是一种人工合成的膜蛋白，由三个结构域组成：细胞外抗原识别结构域、跨膜结构域和细胞内信号结构域[1]。细胞外抗原识别结构域是一种重组多肽，来源于单克隆抗体的重链和轻链，当 T 细胞识别肿瘤抗原后，细胞外抗原识别结构域与肿瘤抗原结合可直接激活并启动 T 细胞杀伤机制，并不受 MHC 限制，避免了由于 MHC 分子的限制和 MHC 分子表达下调引起的肿瘤免疫逃逸[2]。细胞外抗原识别结构域并提供单链抗体的灵活性，且与 CAR 的目标结合能力相关[3]。跨膜结构域主要由 CD8 或免疫球蛋白 G4 分子组成，其可增强 CAR 的稳定性，并提供外结构域和内结构域之间的连接[4]。细胞内信号结构域中，CD3 ζ 或 Fc 受体 γ 为 T 细胞活化提供了第一个信号[5]。尽管 B7-CD28 通路为 T 细胞活化提供了基本信号，但进一步的研究表明，CD3 ζ 具有更优的信号功效[6] [7]。此外，细胞内信号结构域通常包含促进 T 细胞增殖、淋巴因子分泌和效应器功能的共刺激信号域，包括 CD28 [8]、诱导 T 细胞共刺激因子 [6]、DNAX 激活蛋白 10 (DAP10) [9]、CD134 (OX40) [10]或 CD137 (4-1BB) (图 1)。



来源于 Long B, Qin L, Zhang B, *et al.* CAR T-cell therapy for gastric cancer: Potential and perspective (Review). *Int J Oncol.* 2020; 56(4): 889-899. doi:10.3892/ijo.2020.4982.

Figure 1. The structure of CAR-T cell

图 1. CAR-T 细胞结构

自 1989 年第一代 CAR 问世以来, CAR 结构发展到第四代。第一代 CARs 的信号肽区仅包括: T 细胞(抗原)受体(TCR)/CD3 ζ 链, 或免疫球蛋白 Fc 受体 Fc ϵ RI γ 链的单个信号分子, 能够提供类似的刺激信号。然而, 这种类型的 CARs 不足以诱导静息 T 细胞增殖和细胞因子产生, 并抑制体内持续的抗肿瘤反应。为了提高激活效果, 第二代 CAR 的信号肽添加了一个配位刺激分子(主要是 CD28), 它可以更好地提供激活信号。第三代 CAR 的信号肽由两个协同刺激分子(CD28、CD137)整合而成, 旨在进一步增强信号能力和抗肿瘤反应。第四代 CAR 在第三代基础上引入了细胞因子的表达, 可以获得募集免疫细胞的能力。

CART 细胞治疗步骤: CAR-T 治疗可分为多个步骤。首先, CAR-T 细胞的制造过程始于从患者身上收集外周血单核细胞。医生从病人身上提取血液, 并分离提取的血液以选择 T 细胞。其次, 利用基因工程技术特异性地识别慢病毒、逆转录病毒、质粒等载体, 转染 T 细胞, 并将转化后的 T 细胞在细胞表面表达 CARs。细胞经过一定程度的繁殖和扩增后, 返回体内对抗肿瘤细胞[11]。

2. CAR-T 治疗胃癌的主要靶点

2.1. cMet-PD1/CD28-CAR-T 细胞靶向胃癌杀伤作用

间充质上皮转换因子(c-Met)是由 Met 原癌基因编码的受体酪氨酸激酶(RTK)。c-Met 的天然配体是肝细胞生长因子(HGF), 因此 c-Met 又称为肝细胞生长因子受体(HGFR) [12] [13]。胃癌组织中 MET 基因的转录水平显著高于正常胃组织。在分子类型上, 微卫星不稳定性(MSI)的 MET 转录水平高于微卫星稳定性(MSS) ($p = 0.0025$)。在临床病理阶段, III~IV 期的 MET 转录水平高于 I~II 期($p = 0.045$)。在 Lauren 型中, 肠型的 MET 转录水平高于弥漫型大量研究表明, MET 的扩增或过度表达可导致 GC 患者预后不良。研究人员对 14 项独立研究的荟萃分析表明, c-Met 表达增加与 GC 总生存率降低显著相关(HR 2.82, 95% 可信区间 1.86~4.27) [14]。有鉴于此, 科学家将 HGF/c-Met 信号通路视为 GC 分子靶向治疗的靶点, 并相继开发了以 HGF [15]为靶点的利洛单抗(AMG102), 以及临床试验中靶向 c-Met [16]的 Onartuzumab (MetMab)。

最新一项研究表明, PD1/CD28 嵌合开关受体(CSR)通过融合 PD-1 的胞外结构域与 CD28 的跨膜和胞内结构域, 从而将 PD-1 的抑制信号转化为 CD28 的激活信号, 从而改善免疫抑制。并且 CAR-T 联合 PD1/CD28-CSR 比 CAR-T 联合 PD-1 抗体具有更好的抗肿瘤作用[17]。与 c-Met-CAR-T 相比, cMet-PD1/CD28-CAR-T 对高表达 c-Met 的靶细胞的杀伤能力进一步增强, CD107a 脱颗粒反应也增强。cMet-PD1/CD28 CAR-T 中 IFN- γ 和 TNF- α 的分泌也进一步增加[18]。并且 cMet-PD1/CD28-CAR-T 可以增加中枢记忆 T 细胞比例, 延长长期抗肿瘤作用, 减少炎症因子 IL-6 的分泌, 从而降低细胞因子释放综合征的发生率[19]。

2.2. 新型双特异性 Trop2/PD-L1 CAR-T 细胞靶向胃癌的杀伤作用

Trop2 最早发现于人类滋养层细胞表面, 主要表达于上皮细胞膜表面[20]。Trop2 是一种 36 kDa 的单程跨膜蛋白, 与胞质尾部一起分为胞外、跨膜和胞内结构域。Trop2 被 TNF- α 转化酶分解为胞外区和胞内区, 并从胞内区进入细胞质或细胞核, 一旦进入细胞质或细胞核起作用。Trop2 通常在不同的上皮组织肿瘤中表达, 促进其恶生物学行为[21]。相关研究表明 Trop2 在乳腺癌[20]、胰腺癌[22]、胃癌[23]中的高表达可能与分化、TNM 分期、肿瘤大小、淋巴结转移、远处转移和幽门螺杆菌感染有关。Trop2 高表达表明 GC 患者预后较差, 因此其可作为 GC 的新靶点。

程序性死亡配体 1 (PD-L1)是 B7 家族的成员, 也是 PD-1 的配体。PD-L1 是一种 I 型跨膜蛋白, 全长 290 个氨基酸, 表达于多种肿瘤细胞表面。研究表明, PD-1 通过与 PD-L1 结合, 可以触发或抑制在肿瘤环境中起关键作用的信号。这种组合不仅可以通过阻断第一和第二 T 细胞激活信号来阻断 T 细胞的激活,

还可以帮助调节性 T 细胞(调节性 T 细胞, Treg)发挥抑制功能, 并诱导辅助性 T 细胞(T 辅助性 T 细胞, Th)转化为 Treg。PD-1/PD-L1 在各种实体瘤中的广泛存在可能是 CAR-T 技术在实体瘤中效果不佳的主要原因之一[24] [25]。PD-1/PD-L1 单克隆抗体在实体瘤的临床试验中非常有效, 并且 Opdivo (抗 PD-1 单克隆抗体)已被 CFDA 批准用于临床治疗[26]。有关研究表明 PD-L1 在 GC 组织和 GC 转移的淋巴组织中显著升高, 并且与不良的生存预后相关[27]。

因此, 构建新型双特异性 Trop2/PD-L1 CAR-T 细胞能够靶向 Trop2/PD-L1 和检查点阻断, 并揭示其对胃癌的杀伤作用, 从而提高 CAR-T 细胞在实体瘤中的杀伤效果。与单个 CAR-T 细胞(Trop2-CAR-T 和 PD-L1-CAR-T)和对照效应细胞(CD19-CAR-T 细胞和 T 细胞)相比, 双特异性 Trop2/PD-L1 CAR-T 细胞对 Trop2 PD-L1 BGC823 细胞系表现出对胃癌细胞更强的杀伤作用, 并产生更多的细胞因子。双特异性 Trop2/PD-L1 CAR-T 细胞对 Trop2 和 PD-L1 表达 BGC823 表现出最强的杀伤活性。同时, 双特异性 Trop2/PD-L1 CAR-T 细胞产生更多的 IFN- γ 和 IL-2, 以响应肿瘤细胞中 Trop2 和 PD-L1 的表达。这很可能是双特异性 Trop2/PD-L1 CAR-T 细胞高效杀伤能力的结果[27]。

2.3. PSCA CAR-T 细胞

PSCA, 以前被称为前列腺干细胞抗原, 是一种糖基化磷脂酰肌醇(GPI)锚定的细胞表面蛋白, 属于 Thy-1/Ly-6 家族。该抗原已被认为是几种原发性癌症的重要标志, 包括膀胱癌、前列腺癌和胰腺癌[28]。在胃癌中, 与癌旁组织相比, 胃癌组织中 PSCA 的相对表达是降低的($P < 0.05$), 在低分化和未分化胃癌组织中 PSCA 的相对表达显著低于中分化和高分化胃癌组织, 并且研究表明, PSCA 对胃癌的发生有抑制作用, 高表达 PSCA 的胃癌患者的预后相对低表达胃癌患者更好。

抗 PSCA CAR-T 细胞以抗原依赖的方式表现出激活标志物上调和与 T 细胞细胞毒相关的细胞因子产生增加。此外, 抗 PSCA CAR-T 细胞在体外表现出较强的抗肿瘤细胞毒作用。重要的是, 瘤周注射的抗 PSCA CAR-T 细胞在体内成功地抑制了肿瘤的进展[29]。

抗 PSCA 的 CAR-T 细胞比对照的 GFP-T 细胞产生更多的功能性细胞因子。有关研究表明, 抗 PSCA 的 CAR-T 细胞与靶肿瘤细胞共培养后完全激活, CD25 和 CD69 的表达上调。被激活的抗 PSCA CAR-T 细胞也下调 CD62L, CD62L 是一种“归巢受体”, 在遇到抗原后在中央记忆 T 淋巴细胞上高度表达, 但在效应记忆 T 淋巴细胞上不存在。此外, 共刺激免疫检查点分子 CD27 在抗 PSCA CAR-T 细胞上的表达也下调。总之, 这些研究证明, 靶向 PSCA 的 CAR-T 细胞在遇到靶肿瘤细胞后被完全激活, 并通过产生与 T 细胞杀伤相关的传统细胞因子而表现出强大的细胞毒性。

并且瘤周抗 PSCA CAR-T 细胞治疗组显示出明显的抗肿瘤作用。表明抗 PSCA 的 CAR-T 细胞在瘤周输注时具有显著的体内抗肿瘤效果[29]。

2.4. ICAM-1 CAR-T 细胞

细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)是一种细胞表面糖蛋白受体, 参与细胞-细胞和细胞-基质黏附相互作用[30]。ICAM-1 在包括胃癌在内的多种肿瘤中均有高表达, 高表达的胃癌患者的生存率低于低表达的胃癌患者[31]。在肿瘤发生的早期, ICAM-1 的表达可能通过增强免疫监视来抑制肿瘤的生长, 而在肿瘤发生的后期, ICAM-1 的表达可能会随着肿瘤的恶性和分化的丧失而进一步被诱导[32]。

ICAM-1 CAR-T 细胞单一疗法对全身转移有很强的反应。为了增强 CAR-T 细胞抗腹腔肿瘤的活性, 研究人员探索了与紫杉醇的联合应用, 发现显著提高了抗肿瘤活性和生存效益。研究表明 CAR-T 细胞对腹膜肿瘤病变的低活性可能是由于阻碍 CAR-T 细胞治疗实体肿瘤的限制性, 包括对肿瘤穿透的挑战, 免疫抑制环境, 以及在缺氧和营养耗竭的环境中保持 T 细胞的活性。而其中诱导型 IL-12 CAR-T 细胞对难

治性腹膜肿瘤具有优越的抗肿瘤活性，并伴有较高水平的血浆 IFN- γ 和 TNF- α 水平[32]。

2.5. MSLN CAR-T 细胞

间皮蛋白(MSLN)是一种 40 kDa 的膜蛋白，已报道在正常间皮组织中表达，在间皮瘤和肺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌和胃癌中高表达[33] [34] [35]。MSLN 在胃癌细胞系中表达上调，胃癌肿瘤浸润越深、分期越晚、有淋巴结转移胃癌腺管腔，MSLN 表达就越高，MSLN 在胃癌发生过程起着促进的作用。并且研究表明，MSLN 在原发灶与淋巴结转移灶的表达强度上也有差异，MSLN 在淋巴结转移灶表达较胃癌原发灶癌组织中表达较高，并证实 MSLN 表达与淋巴浸润和患者预后不良有关，高表达 MSLN 的胃癌预后会更差[36]。因此，我们相信 MSLN 是胃癌组织的有效靶点。

研究证实，第三代 CAR 抗 MSLN CAR (M28z10)T 细胞在体外与靶细胞 MSLN + 肿瘤细胞接触后，表现出较强的细胞毒作用和细胞因子的产生，表面表型也发生了明显的变化，提示 M28z10T 细胞能够诱导出较强的免疫应答和抗胃癌细胞活性。并且其对远处转移胃癌细胞有明显的杀伤作用[36]。

瘤周给药策略可以改善 CAR-T 细胞在肿瘤组织中的早期浸润，导致肿瘤消退。区域递送 CAR-T 细胞不仅可以提高注射肿瘤的抗肿瘤效果，而且被认为可以避免全身递送方法带来的不良反应[36]。

2.6. Claudin 18.2

Claudin 18.2 (CLDN 18.2)是一种胃特异性膜蛋白[37]，被认为是胃癌的潜在治疗靶点。该蛋白参与细胞的紧密连接，胃粘膜上皮屏障的形成，并在一些肿瘤，如胃食管和胰腺癌中高度表达。

由于 CLDN 18.2 是一种高度选择性的胃谱系抗原，它在短期分化的胃上皮细胞中表达，并可能导致抗体药物的限制。在正常组织中，表达模式受到高度限制，但在癌症中，它可以被异源激活。研究证实 CLDN 18.2 是一个高抗肿瘤活性，特别是细胞毒性的靶点，具有很高的安全性。并且联合应用 RNA 疫苗和 CLDN 18.2-CAR-T 可以有效地增强 CAR T-c-1-l s 的体外杀伤和晚期肿瘤排斥反应[38]。一项实验数据显示，在 CLDN 18.2 阳性癌细胞存在的情况下，两个 CAR T 细胞产生的 TNF- α 、IL-2 和 IFN- γ 量均高于模拟 T 细胞，而在 CLDN 18.2 阴性癌细胞存在的情况下没有观察到细胞因子的分泌[39]。

并且转移灶及其原发胃癌组织中 CLDN 18.2 的表达水平彼此一致，提示肿瘤离开原发灶后 CLDN 18.2 的表达水平无明显变化。因此，CLDN 18.2 CAR-T 细胞对远处转移胃癌细胞仍然有较强的杀伤作用[39]。

2.7. 叶酸受体 1 (FOLR1)靶向嵌合抗原受体(CAR)T 细胞

叶酸受体 1 (FOLR1)，也称为叶酸受体 α 和叶酸结合蛋白，是一种糖基磷脂酰肌醇连接蛋白，FOLR1 对叶酸具有高度亲和力，并被认为是与叶酸结合时启动细胞内调节信号。与叶酸结合的 FOLR1 被显示为内化，进入细胞核，并作为转录因子发挥作用[38]。研究发现 FOLR1 在各种上皮性恶性肿瘤中过度表达，包括卵巢癌、乳腺癌、肾癌和肺癌[40]。正常组织中的 FOLR1 仅在极化上皮细胞的顶端表面表达，不暴露于血流中。胃癌患者中，叶酸受体 1 (FOLR1)在细胞表面过度表达，但在正常组织中很少表达。这使得 FOLR1 成为嵌合抗原受体(CAR) T 细胞免疫治疗的潜在靶点。实验证实，FOLR1-CAR 在自然杀伤细胞系 KHYG-1 (一种对靶细胞具有强烈细胞毒性活性的自然杀伤(NK)细胞系)中的表达对 FOLR1 阳性 GC 细胞具有强烈的细胞毒性作用[41]。

FOLR1-CAR-T 细胞是特异性作用于 KB 细胞，KB 细胞是以颗粒酶 B 依赖的方式裂解的。(颗粒酶 B 是细胞毒性 T 细胞和 NK 细胞的分泌颗粒，是一种著名的丝氨酸蛋白酶。一旦颗粒酶 B 分泌到靶细胞中，它就会激活几种促凋亡蛋白)。颗粒酶 B 是靶细胞死亡的主要因素。并且 FOLR1-CAR-T 细胞中的 KB 细胞显著诱导 AKT、JNK、p38 和 ERK 的磷酸化。并产生高水平的 IFN- γ 、TNF- α 、GM-CSF 和颗粒酶 B。

FOLR1-CAR-T 细胞对 FOLR1 阳性 GC 细胞具有特异性识别和有效的抗癌活性。因此, FOLR1-CAR-T 细胞是治疗具有 FOLR1 阳性 GC 细胞的患者的极好选择[41]。

2.8. 单克隆抗体 3H11 嵌合抗原受体

scFV-3H11 CAR-T 细胞在体外能够杀死肿瘤细胞, 同时增加白细胞介素-2 和干扰素- γ 的分泌, 并在体内降低 GC 细胞系和患者来源 GC 细胞的肿瘤负担。并且单克隆抗体 3H11 与大多数 GC 组织反应, 但与少数正常组织反应较弱, 表明单克隆抗体 3H11 具有 GC 诊断或靶向治疗的潜力[42]。

研究证实, 培养的 CAR-T 淋巴细胞中蛋白质水平的变化, 包括趋化因子受体(26)或乙酰肝素酶(27)表达的增加, 可能促进肿瘤浸润和抗肿瘤活性。因此, 开发与乙酰肝素酶或趋化因子受体共表达的 3H11-CAR-T 细胞可能是提高该治疗工具治疗 GC 疗效的一种方法[42]。

3. CART 细胞局限性

3.1. 靶点特异性和敏感性问题

没有一个单一的靶点可以覆盖整个肿瘤, 靶抗原在正常组织中表达。因此, 如果使用单一的 CAR-T 靶点, 肿瘤不会被完全根除, 复发的可能性仍然存在。因此, 实体瘤的 CAR-T 靶向包括非肿瘤特异性和“缺失效应”[43]。T 细胞与其靶细胞之间的空间距离对 T 细胞抗肿瘤的准确定位、激活和信号转导也起着重要作用[44]。此外, 大多数活的抗原在实体瘤中的异质性表达水平较低。肿瘤抗原逃逸的丧失也是一个问题。例如, CD19 在治疗 B-ALL 时可能是由于出现了谱系转换, 而剪接变异体也可能导致抗原逃逸的丢失。此外, 低亲和力抗原可影响 CAR 诱导的 T 细胞反应质量[45]。EGFRvIII 和 TAE 表达的异质性仍然是使用 CAR 修饰的 T 细胞(CART)-EGFRvIII 治疗 EGFRvIII 表达的复发 GBM 患者成功的主要障碍[46]。

3.2. TME

肿瘤微环境(TME)对肿瘤的生长和繁殖起着重要的作用, 并有抑制肿瘤生长和繁殖的趋势。抑制信号包括来自实体肿瘤部位的细胞因子和实体肿瘤内的可溶性分子。此外, 多种免疫抑制细胞在微环境中起着至关重要的作用[47]。大量的 T 细胞抑制信号如 PD-L1 在 TME、调节细胞(Treg)、髓系来源的抑制细胞和 M2 巨噬细胞中表达, IL-10 和转化生长因子- β 等免疫抑制分子也在 TME 中发挥独特的免疫抑制作用。TME 常常阻碍效应淋巴细胞的致敏作用, 不仅降低了其浸润能力, 而且抑制了浸润的效应 T 细胞, 降低了抗肿瘤作用。研究表明, TME 中的间充质干细胞可以显著抑制 CAR-T 细胞的活性[48]。巨噬细胞和成纤维细胞是最丰富的基质细胞, 并且与癌细胞具有双向相互作用。肿瘤相关巨噬细胞可以促进肿瘤的发生、发展和转移, 保护肿瘤免受细胞毒性物质的侵袭[49]。此外, 实体瘤的低 pH、低氧和营养不良不利于 CAR-T 细胞的存活和活化。

3.3. 低效 T 细胞归巢

实体肿瘤分泌的趋化因子和作用于 CARS 上游的趋化因子的“错配效应”使 CAR-T 细胞极难到达肿瘤部位, 大量肿瘤相关成纤维细胞组成的物理屏障和细胞运输配体的最少分泌也使 CAR-T 细胞很难到达肿瘤部位[50]。CAR-T 细胞可以降解乙酰肝素酶, 释放 HPSE 也有助于实体肿瘤的攻击。因此, 在体外工程和培养的肿瘤特异性 T 细胞中缺乏 HPSE 可能会限制它们在实体瘤中的抗肿瘤活性[51]。

4. 实体肿瘤 CAR-T 治疗的最新进展

CAR-T 被认为是实体瘤的长期治疗方法, 新的策略仍在开发中。联合治疗效果优于单一 CAR-T 治

疗。在异种移植瘤模型中,多种细胞因子介导的溶瘤病毒也与 CAR-T 治疗联合使用,这种联合治疗增强了抗肿瘤活性。新的 p40/IL23 细胞因子系统可以特异性地作用于激活的 CAR-T 细胞,帮助它们增殖,在多种实体肿瘤模型中促进抗癌效果[52]。在免疫检查点抑制剂的作用下, CAR-T 细胞不仅增强了细胞攻击肿瘤细胞的能力,还帮助其他 T 细胞对抗肿瘤。此外,将分泌的 PD-1 单链抗体负载到 CAR-T 细胞上,不仅可以增强细胞攻击肿瘤细胞的能力,还可以帮助其他 T 细胞对抗肿瘤[53]。10 μm 厚的金属镍醇膜可以包裹 CAR-T 细胞并附着在肿瘤组织上。这相当于给 CAR-T 细胞披上了一层盔甲,与传统的静脉注射相比,其存活率和增殖率都有很大提高,从而对器官上的肿瘤细胞起到了更好的杀灭和抑制作用[54]。

CAR 部件的结构也影响着 CAR-T 的性能。在实体瘤的特异性 TME 中,很难识别安全靶点的肿瘤相关蛋白。除了上述第四代 CAR 的进展外,还发展了表达 IL-7 和 CCL19 的超 CAR-T 细胞和 CAR-T 细胞(7.19 个 CAR-T 细胞)[55]。此外,传统 CAR 结构中的单链抗体可以转变为组织穿透性更好、稳定性更高的纳米体[56][57]。总体而言, CAR-T 技术的发展、CAR-T 与其他疗法的结合以及 CARs 的修饰是未来胃癌治疗的有前景的途径。

基金项目

陕西省重点研发计划,项目名称:SA-GM-CSF 膜修饰自体胃癌新型瘤苗的研发及联合 ICPIs 的临床前应用研究(编号:2021ZDLSF01-07)。

参考文献

- [1] Ramos, C.A. and Dotti, G. (2011) Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Engineered Lymphocytes for Cancer Therapy. *Expert Opinion on Biological Therapy*, **11**, 855-873. <https://doi.org/10.1517/14712598.2011.573476>
- [2] Jackson, H.J., Rafiq, S. and Brentjens, R.J. (2016) Driving CAR T-Cells Forward. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **13**, 370-383. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.36>
- [3] Till, B.G., Jensen, M.C., Wang, J., et al. (2012) CD20-Specific Adoptive Immunotherapy for Lymphoma Using a Chimeric Antigen Receptor with both CD28 and 4-1BB Domains: Pilot Clinical Trial Results. *Blood*, **119**, 3940-3950. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-387969>
- [4] Porter, D.L., Levine, B.L., Kalos, M., et al. (2011) Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells in Chronic Lymphoid Leukemia. *The New England Journal of Medicine*, **365**, 725-733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1103849>
- [5] Jensen, M.C. and Riddell, S.R. (2015) Designing Chimeric Antigen Receptors to Effectively and Safely Target Tumors. *Current Opinion in Immunology*, **33**, 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2015.01.002>
- [6] Mcadam, A.J., Greenwald, R.J., Levin, M.A., et al. (2001) ICOS Is Critical for CD40-Mediated Antibody Class Switching. *Nature*, **409**, 102-105. <https://doi.org/10.1038/35051107>
- [7] Lipowska-Bhalla, G., Gilham, D.E., Hawkins, R.E., et al. (2012) Targeted Immunotherapy of Cancer with CAR T Cells: Achievements and Challenges. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **61**, 953-962. <https://doi.org/10.1007/s00262-012-1254-0>
- [8] Haynes, N.M., Trapani, J.A., Teng, M.W., et al. (2002) Single-Chain Antigen Recognition Receptors That Costimulate Potent Rejection of Established Experimental Tumors. *Blood*, **100**, 3155-3163. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-04-1041>
- [9] Wu, J., Song, Y. and Bakker, A. (1999) An Activating Immunoreceptor Complex Formed by NKG2D and DAP10. *Science*, **285**, 730-731. <https://doi.org/10.1126/science.285.5428.730>
- [10] Pule, M.A., Straathof, K.C., Dotti, G., et al. (2005) A Chimeric T Cell Antigen Receptor That Augments Cytokine Release and Supports Clonal Expansion of Primary Human T Cells. *Molecular Therapy*, **5**, 933-941. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2005.04.016>
- [11] Kochenderfer, J.N. and Rosenberg, S.A. (2013) Treating B-Cell Cancer with T Cells Expressing Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptors. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **10**, 267-276. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2013.46>
- [12] Catenacci, D.V., Ang, A., Liao, W.L., et al. (2017) MET Tyrosine Kinase Receptor Expression and Amplification as Prognostic Biomarkers of Survival in Gastroesophageal Adenocarcinoma. *Cancer*, **123**, 1061-1070. <https://doi.org/10.1002/cncr.30437>
- [13] Fuse, N., Kuboki, Y., Kuwata, T., et al. (2016) Prognostic Impact of HER2, EGFR, and c-MET Status on Overall Sur-

- vival of Advanced Gastric Cancer Patients. *Gastric Cancer*, **19**, 183-191. <https://doi.org/10.1007/s10120-015-0471-6>
- [14] Zhi, P., Yan, Z., Wang, Q., *et al.* (2014) Prognostic Significance of MET Amplification and Expression in Gastric Cancer: A Systematic Review with Meta-Analysis. *PLoS ONE*, **9**, e84502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084502>
- [15] Catenacci, D., Tebbutt, N.C., Davidenko, I., *et al.* (2017) Rilotumumab plus Epirubicin, Cisplatin, and Capecitabine as First-Line Therapy in Advanced MET-Positive Gastric or Gastro-Oesophageal Junction Cancer (RILOMET-1): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *The Lancet Oncology*, **18**, 1467-1482. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30566-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30566-1)
- [16] Shah, M.A., Bang, Y.J., Lordick, F., *et al.* (2017) Effect of Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin with or without Onartuzumab in HER2-Negative, MET-Positive Gastroesophageal Adenocarcinoma: The METGastric Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology*, **3**, 620-627. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.5580>
- [17] Liu, X.J., *et al.* (2016) A Chimeric Switch-Receptor Targeting PD1 Augments the Efficacy of Second-Generation CAR T Cells in Advanced Solid Tumors. *Cancer Research*, **76**, 1578-1590. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-2524>
- [18] Ankri, C., Shamalov, K., Horovitz-Fried, M., *et al.* (2013) Human T Cells Engineered to Express a Programmed Death 1/28 Costimulatory Retargeting Molecule Display Enhanced Antitumor Activity. *Journal of Immunology*, **191**, 4121-4129. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203085>
- [19] Chen, C., Gu, Y.M., Zhang, F., *et al.* (2021) Construction of PD1/CD28 Chimeric-Switch Receptor Enhances Anti-Tumor Ability of c-Met CAR-T in Gastric Cancer. *Oncimmunology*, **10**, Article ID: 1901434. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2021.1901434>
- [20] Lin, H., Zhang, H., Wang, J., *et al.* (2014) A Novel Human Fab Antibody for Trop2 Inhibits Breast Cancer Growth *in Vitro* and *in Vivo*. *International Journal of Cancer*, **134**, 1239-1249. <https://doi.org/10.1002/ijc.28451>
- [21] Shvartsur, A. and Bonavida, B. (2015) Trop2 and Its Overexpression in Cancers: Regulation and Clinical/Therapeutic Implications. *Genes Cancer*, **6**, 84-105. <https://doi.org/10.18632/genesandcancer.40>
- [22] Wang, H., Liu, Q., Tang, X., *et al.* (2014) Eukaryotic Expression of Human Anti-TROP2 Antibody IgG and Its Inhibitory Effect on Cell Proliferation of Pancreatic Cancer. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, **41**, 269-277.
- [23] Zhao, W., Zhu, H., Zhang, S., *et al.* (2016) Trop2 Is Overexpressed in Gastric Cancer and Predicts Poor Prognosis. *Oncotarget*, **7**, 6136-6144. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6733>
- [24] Weinstock, M. and Mcdermott, D. (2015) Targeting PD-1/PD-L1 in the Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Therapeutic Advances in Urology*, **7**, 365-377. <https://doi.org/10.1177/1756287215597647>
- [25] Singer, M., Wang, C., Cong, L., *et al.* (2017) A Distinct Gene Module for Dysfunction Uncoupled from Activation in Tumor-Infiltrating T Cells. *Cell*, **171**, 1221-1223. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.006>
- [26] Ivashko, I.N. and Kolesar, J.M. (2016) Pembrolizumab and Nivolumab: PD-1 Inhibitors for Advanced Melanoma. *American Journal of Health-System Pharmacy*, **73**, 193-201. <https://doi.org/10.2146/ajhp140768>
- [27] Zhao, W., Jia, L., Zhang, M., *et al.* (2019) The Killing Effect of Novel Bi-Specific Trop2/PD-L1 CAR-T Cell Targeted Gastric Cancer. *The American Journal of Cancer Research*, **9**, 1846-1856.
- [28] Saeki, N., Gu, J., Yoshida, T., *et al.* (2010) Prostate Stem Cell Antigen: A Jekyll and Hyde Molecule? *Clinical Cancer Research*, **16**, 3533-3538. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-3169>
- [29] Wu, D., Lv, J., Zhao, R., *et al.* (2020) PSCA Is a Target of Chimeric Antigen Receptor T Cells in Gastric Cancer. *Biomarker Research*, **8**, 3. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-0183-x>
- [30] Ziprin, P., Ridgway, P.F., Pfistermuller, K.L., *et al.* (2003) ICAM-1 Mediated Tumor-Mesothelial Cell Adhesion Is Modulated by IL-6 and TNF-Alpha: A Potential Mechanism by Which Surgical Trauma Increases Peritoneal Metastases. *Cell Communication & Adhesion*, **10**, 141-154. <https://doi.org/10.1080/15419060390262561>
- [31] Jung, W.C., Jang, Y.J., Kim, J.H., *et al.* (2012) Expression of Intercellular Adhesion Molecule-1 and e-Selectin in Gastric Cancer and Their Clinical Significance. *Journal of Gastric Cancer*, **12**, 140-148. <https://doi.org/10.5230/jgc.2012.12.3.140>
- [32] Jung, M., Yang, Y., McCloskey, J.E., *et al.* (2020) Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy Targeting ICAM-1 in Gastric Cancer. *Molecular Therapy—Oncolytics*, **18**, 587-601. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2020.08.009>
- [33] Chang, K. and Pastan, I. (1996) Molecular Cloning of Mesothelin, a Differentiation Antigen Present on Mesothelium, Mesotheliomas, and Ovarian Cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 136-140. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.1.136>
- [34] Ito, T., Kajino, K., Abe, M., *et al.* (2014) ERC/Mesothelin Is Expressed in Human Gastric Cancer Tissues and Cell Lines. *Oncology Reports*, **31**, 27-33. <https://doi.org/10.3892/or.2013.2803>

- [35] Sotoudeh, M., Shirvani, S.I., Merat, S., *et al.* (2019) MSLN (Mesothelin), ANTXR1 (TEM8), and MUC3A Are the Potent Antigenic Targets for CAR T Cell Therapy of Gastric Adenocarcinoma. *Journal of Cellular Biochemistry*, **120**, 5010-5017. <https://doi.org/10.1002/jcb.27776>
- [36] Lv, J., Zhao, R., Wu, D., *et al.* (2019) Mesothelin Is a Target of Chimeric Antigen Receptor T Cells for Treating Gastric Cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, **12**, 18. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0704-y>
- [37] Niimi, T., Nagashima, K., Ward, J.M., *et al.* (2001) Claudin-18, a Novel Downstream Target Gene for the T/EBP/NKX2.1 Homeodomain Transcription Factor, Encodes Lung- and Stomach-Specific Isoforms through Alternative Splicing. *Molecular and Cellular Biology*, **21**, 7380-7390. <https://doi.org/10.1128/MCB.21.21.7380-7390.2001>
- [38] Vergote, I.B., Marth, C. and Coleman, R.L. (2015) Role of the Folate Receptor in Ovarian Cancer Treatment: Evidence, Mechanism, and Clinical Implications. *Cancer and Metastasis Reviews*, **34**, 41-52. <https://doi.org/10.1007/s10555-014-9539-8>
- [39] Jiang, H., Shi, Z., Wang, P., *et al.* (2019) Claudin18.2-Specific Chimeric Antigen Receptor Engineered T Cells for the Treatment of Gastric Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, **111**, 409-418. <https://doi.org/10.1093/jnci/djy134>
- [40] Elnakat, H. and Ratnam, M. (2006) Role of Folate Receptor Genes in Reproduction and Related Cancers. *Frontiers in Bioscience*, **11**, 506-519. <https://doi.org/10.2741/1815>
- [41] Kim, M., Pyo, S., Kang, C.H., *et al.* (2018) Folate Receptor 1 (FOLR1) Targeted Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells for the Treatment of Gastric Cancer. *PLoS ONE*, **13**, e198347. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198347>
- [42] Han, H., Wang, S., Hu, Y., *et al.* (2018) Monoclonal Antibody 3H11 Chimeric Antigen Receptors Enhance T Cell Effector Function and Exhibit Efficacy against Gastric Cancer. *Oncology Letters*, **15**, 6887-6894. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8255>
- [43] Pang, Y., Hou, X., Yang, C., *et al.* (2018) Advances on Chimeric Antigen Receptor-Modified T-Cell Therapy for Oncotherapy. *Molecular Cancer*, **17**, 91. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0840-y>
- [44] Lu, P., Qiu, S., Pan, Y., *et al.* (2021) Preclinical Chimeric Antibody Chimeric Antigen Receptor T Cell Progress in Digestive System Cancers. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, **36**, 307-315. <https://doi.org/10.1089/cbr.2020.4089>
- [45] Majzner, R.G. and Mackall, C.L. (2018) Tumor Antigen Escape from CAR T-Cell Therapy. *Cancer Discovery*, **8**, 1219-1226. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0442>
- [46] Viapiano, M., Bhat, K., Abounader, R., *et al.* (2017) A Single Dose of Peripherally Infused EGFRvIII-Directed CAR T Cells Mediates Antigen Loss and Induces Adaptive Resistance in Patients with Recurrent Glioblastoma. *NeuroOncology*, **19**, 1574-1575.
- [47] Li, J., Li, W., Huang, K., *et al.* (2018) Chimeric Antigen Receptor T Cell (CAR-T) Immunotherapy for Solid Tumors: Lessons Learned and Strategies for Moving Forward. *Journal of Hematology & Oncology*, **11**, 22. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0568-6>
- [48] Inaguma, Y., Akahori, Y., Murayama, Y., *et al.* (2014) Construction and Molecular Characterization of a T-Cell Receptor-Like Antibody and CAR-T Cells Specific for Minor Histocompatibility Antigen HA-1H. *Gene Therapy*, **21**, 575-584. <https://doi.org/10.1038/gt.2014.30>
- [49] Ireland, L., Santos, A., Ahmed, M.S., *et al.* (2016) Chemoresistance in Pancreatic Cancer Is Driven by Stroma-Derived Insulin-Like Growth Factors. *Cancer Research*, **76**, 6851-6863. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1201>
- [50] Magee, M.S., Kraft, C.L., Abraham, T.S., *et al.* (2016) GUCY2C-Directed CAR-T Cells Oppose Colorectal Cancer Metastases without Autoimmunity. *Oncoimmunology*, **5**, e1227897. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2016.1227897>
- [51] Caruana, I., Savoldo, B., Hoyos, V., *et al.* (2015) Heparanase Promotes Tumor Infiltration and Antitumor Activity of CAR-Redirected T Lymphocytes. *Nature Medicine*, **21**, 524-529. <https://doi.org/10.1038/nm.3833>
- [52] Ma, X., Shou, P., Smith, C., *et al.* (2020) Interleukin-23 Engineering Improves CAR T Cell Function in Solid Tumors. *Nature Biotechnology*, **38**, 448-459. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0398-2>
- [53] Rafiq, S., Yeku, O.O., Jackson, H.J., *et al.* (2018) Targeted Delivery of a PD-1-Blocking scFv by CAR-T Cells Enhances Anti-Tumor Efficacy *In Vivo*. *Nature Biotechnology*, **36**, 847-856. <https://doi.org/10.1038/nbt.4195>
- [54] Coon, M.E., Stephan, S.B., Gupta, V., *et al.* (2020) Nitinol Thin Films Functionalized with CAR-T Cells for the Treatment of Solid Tumors. *Nature Biomedical Engineering*, **4**, 195-206. <https://doi.org/10.1038/s41551-019-0486-0>
- [55] Cho, J.H., Collins, J.J. and Wong, W.W. (2018) Universal Chimeric Antigen Receptors for Multiplexed and Logical Control of T Cell Responses. *Cell*, **173**, 1426-1438. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.038>
- [56] Ingram, J.R., Schmidt, F.I. and Ploegh, H.L. (2018) Exploiting Nanobodies' Singular Traits. *Annual Review of Immunology*, **36**, 695-715. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053327>

-
- [57] Xie, Y.J., Dougan, M., Jaikhani, N., *et al.* (2019) Nanobody-Based CAR T Cells That Target the Tumor Microenvironment Inhibit the Growth of Solid Tumors in Immunocompetent Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **116**, 7624-7631. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817147116>