

· 综 述 ·

嵌合抗原受体 T 细胞治疗胶质母细胞瘤的研究进展

吴 勇 综述 黄书岚 审校

【关键词】 胶质母细胞瘤;嵌合抗原受体 T 细胞;胶质瘤干细胞

【文章编号】 1009-153X(2021)01-0043-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 739.41; R 730.51

胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)是成人最常见的颅内原发性恶性肿瘤,中位生存期约 15 个月^[1]。目前,新诊断的 GBM 标准治疗包括最大化安全切除、替莫唑胺化疗联合同步放疗等^[2]。即使采用综合治疗,很短时间内仍不可避免地出现复发,预后不良。由于肿瘤的异质性、化疗耐药性、血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)等因素,使得 GBM 的传统治疗面临巨大的挑战。近年来,嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cells, CAR-T)疗法在治疗 GBM 中取得许多进展。本文介绍 CAR-T 治疗 GBM 的最新研究进展以及面临的挑战。

1 CAR-T 治疗机制

嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)是特殊的人工蛋白,分为胞外、跨膜区及胞内三部分,其中胞外部分具有特异性结构域可以识别肿瘤表面相关抗原,而且不需要依赖主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)的介导,从而避免了肿瘤通过下调 MHC 进行免疫逃逸;跨膜结构域将胞外与胞内结合为一体,起到信息传递的作用;而胞内部分包含酪氨酸酶活化序列,可激活 T 细胞毒性及增殖,发挥靶向性的抗肿瘤效果^[3]。

经过更新迭代, CAR 不断完善。第 1 代 CAR 胞内仅有 1 个 T 细胞信号结构,只能简单识别靶细胞及活化 T 细胞,因此在体内存活时间短,抗癌作用甚微。第 2 代 CAR 在第 1 代的基础上增加了 1 个共刺激分子信号(如 CD27、CD28、OX40、4-1BB 等),实现了共刺激分子、胞内信号域的双重活化,使 T 细胞可以自我增殖,并释放一些增强细胞功能的因子。第

3 代 CAR 同时拥有 2 个共激分子, T 细胞可持续增殖,明显增强了杀伤肿瘤的作用。第 4 代 CAR 加入了更多的功能元件,包括可控开关、自杀基因、增强 T 细胞功能的分子等。

2 CAR-T 治疗 GBM 的可行性和优势

美国食品和药物管理局在 2017 年批准了两款 CAR-T 用于血液恶性肿瘤的临床治疗。鉴于 CAR-T 在血液系统肿瘤中突出的疗效,越来越多的研究将 CAR-T 用于实体肿瘤治疗。

颅内淋巴管的发现以及效应 T 细胞运输的研究,使得中枢神经作为免疫特区的概念被推翻,使 GBM 的免疫治疗有了理论基础^[4]。肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)与肿瘤相关抗原的丰度呈正相关。由于胶质瘤的 TMB 相对较低,新抗原不足以使 T 细胞识别肿瘤;并且, GBM 初级免疫应答的产生受到抗原特异性 T 细胞受体信号传导和抗原非依赖性共刺激信号传导缺陷的限制。而 CAR 构建体包含有共激结构域,不需要刺激初级免疫应答。胶质瘤干细胞(glioma stem cells, GSCs)对放、化疗不敏感,是治疗失败的关键原因。CAR-T 疗法对 GSCs 有效,并有根除这类细胞的希望。

3 CAR-T 在 GBM 中的具体应用

3.1 IL-13R α 2 CAR-T 细胞

IL-13R α 2 的表达与胶质瘤的级别呈正相关,超过 70% 的 GBM 呈过表达,正常脑组织几乎不表达。高表达 IL-13R α 2, 激活 Src/PI3K/Akt/mTOR 信号通路,促进肿瘤细胞的增殖、侵袭与转移^[5]。IL-13R α 2 是细胞因子 IL-13 受体中的 2 个亚基之一, IL-13 以低亲和力结合 IL-13R α 1, 随后 IL-13R α 1 与 IL-4R α 形成异二聚体, 激活 STAT6 信号通路, 诱导细胞凋亡。IL-13R α 2 以较高的亲和力结合 IL-13, 是一种诱饵受体, 为肿瘤细胞的凋亡逃逸机制。

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.01.015

作者单位: 430060 武汉, 武汉大学人民医院神经外科(吴 勇、黄书岚)

通讯作者: 黄书岚, E-mail: donghufuyu@qq.com

2015 年, Brown 等^[6]通过术后瘤腔给予第一代靶向性 IL-13R α 2 的 CAR-T 治疗复发性 GBM 共 3 例, 最长存活时间约 14 个月, 其中 2 例有客观的影像学表现, 出现的头痛和短暂神经功能缺损等不良事件可控制; 第一代 IL-13R α 2 CAR-T 在体内存活时间约 14 d, 缺乏持久性。2018 年, Brown 等^[7]在前期的基础上进行了优化, 开发出第二代 IL-13R α 2 靶向 CAR-T, 称为 IL-13BB ζ T, 减少脱靶细胞受体的相互作用, 增加了细胞内信号传导结构 CD137(4-1BB), 同时加入用于细胞追踪和富集的截短信号 CD19(CD19t); 小鼠模型实验表明 IL-13BB ζ T 比第一代 CAR-T 拥有更高、更持久抗肿瘤效应, 并未出现明显的毒性反应, 还发现肿瘤局部给药途径似乎更优于静脉内全身给药。有临床试验报道^[8], 瘤腔内先后 6 次输注第二代 IL-13R α 2 CAR-T 治疗 1 例复发的多灶 GBM, 在输入部位未见肿瘤生长, 后因颅内其他部位和脊髓新发肿瘤进行 10 次脑室内给药, 第三次脑室给药后观察到所有颅内和脊髓肿瘤均明显缩小。Keu 等^[9]用 18F-9-[4-氟-3-(羟甲基)丁基]鸟嘌呤 PET 分子显像研究过继到体内 CD8⁺ 毒性 T 淋巴细胞, 把单纯疱疹病毒 1 型胸苷激酶作为酶报告基因标记到 IL-13R α 2 CAR-T 中, 该方法能准确地监测 CAR-T 细胞活力、生物分布、运输过程等。

3.2 表皮生长因子受体 III 型突变体 (epidermal growth factor receptor variant type III, EGFRv III) 靶向 CAR-T EGFR 是一种酪氨酸激酶受体, 在许多肿瘤中表达失调。EGFRv III 是最常见的突变体, 缺乏与胞外配体相结合的结构域, 因此, 该酪氨酸激酶受体不再依赖配体, 可以持续激活多条下游的信号通路 (如 PI3K、Ras 等), 从而引起肿瘤细胞增殖、血管新生、侵袭等一系列反应^[10]。EGFRv III 在约 30% 的 GBM 中呈阳性表达, 而在正常组织中无表达, 因此成为治疗 GBM 的安全可行的有效靶点。

Morgan 等^[11]开发了第三代 EGFRv III 靶向性 CAR-T, 以 CD28-41BB-CD3 ζ 作为 T 细胞信号传导结构域, 可特异性识别 GSCs 和胶质瘤细胞系, 并对培养的正常组织细胞无影响。在 GBM 模型小鼠中, EGFRv III 靶向性 CAR-T 可以有效通过 BBB 到达肿瘤区, 表现出抗肿瘤功效^[12]。郑岩等^[13]也成功构建了第三代 EGFRv III 靶向性 CAR-T, 对 EGFRv III 阳性 U87 胶质瘤细胞有特异杀伤效果。O'Rourke 等^[14]首先进行 EGFRv III 靶向性 CAR-T 的临床试验, 静脉输注 EGFRv III 靶向性 CAR-T 治疗复发性 GBM 共 10 例, 部分病人出现肿瘤外毒性和细胞因子释放综合

征, 中位生存期为 8 个月, 1 例无进展生存期达到 18 个月以上。大多数 EGFRv III 阳性 GBM 在复发时维持 EGFRv III 阳性, 而一部分病人却发生变化, 因此对于接受 EGFRv III 靶向治疗的 GBM 病人, 建议重复活检并重新评估 EGFRv III 状态^[15]。目前, EGFRv III 靶向性 CAR-T 治疗复发性 GBM 疗效和安全性的临床试验 (NCT02209376, NCT01454596) 仍在进行中。

3.3 人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2) 靶向 CAR-T HER2 是一种跨膜糖蛋白, 属于 EGFR 家族, HER2 致癌基因存在于编码 HER2 蛋白的 17 号染色体的长臂, 可以通过多个信号通路影响细胞增殖和凋亡。HER2 表达与 GBM 的预后有着密切关系^[16], 因此, HER2 是 GBM 病人 CAR-T 治疗的另一个重要靶点。但是有案例报道显示, 1 例转移性肠癌接受 CAR-T 疗法后死亡, 原因是 CAR 识别肺上皮细胞中低水平表达的 HER2 所致, 因此其安全性受到关注^[17]。

Ahmed 等^[18]通过编码 HER2 的逆转录病毒载体, 转导活化 T 细胞获得 HER2 靶向性 CAR-T, 发现 HER2 靶向 CAR-T 可杀死 HER2 阳性 GBM 细胞和 CD133 阳性干细胞, 具有显著抗肿瘤活性。HER2 靶向 CAR-T 的一期临床试验 (NCT01109095) 已经完成^[19], 17 例均是 HER2 阳性复发性或进展性 GBM, 通过静脉给予 HER2 靶向 CAR-T, 1 例出现超过 9 个月的部分反应, 7 例具有 8 周至 29 个月的无进展期, 治疗后和诊断后的中位生存期分别为 11.1 个月、24.5 个月, 试验未观察到剂量限制性毒性, 2 例出现 2 级癫痫和/或头痛。

3.4 酪氨酸蛋白激酶受体 2 (ephrinA2 receptor EphA2) 靶向 CAR-T EphA2 在许多肿瘤中过表达, EphA2 与相应的配体结合后通过 Ras/ERK 和 PI3/Akt 途径调节细胞增殖及凋亡。EphA2 在大部分 GBM 中呈过表达, 并且与预后相关, 使其成为治疗 GBM 的极具吸引力的靶点^[20]。

Chow 等^[21]研究发现 EphA2 靶向 CAR-T 可以诱导产生 γ -干扰素和白细胞介素 (interleukin, IL)-2, 对肿瘤细胞具有显著的细胞毒性; 12 只模型小鼠颅内注入 2×10^6 个 EphA2 靶向 CAR-T 后, 生物发光成像显示肿瘤信号明显减弱, 小鼠存活时间延长; 降低输入 EphA2 靶向 CAR-T 细胞数后也发现了抗肿瘤效应, 但是通过静脉途径输入方式未观察到抗肿瘤作用。有学者对 EphA2 特异性 CAR 进行修饰, 获得优化的 EphA2 靶向 CAR-T, 抗肿瘤活性增加了 20 倍^[22]。EphA2 靶向 CAR-T 的临床试验

(NCT02575261)已经完成,目前未公布试验数据。

4 CAR-T 治疗 GBM 面临的挑战与方向

4.1 抗原异质性与抗原逃逸 GBM 抗原异质性是免疫治疗耐药的主要原因。IL-13R α 2 靶向 CAR-T 和 EGFRv III 靶向 CAR-T 治疗后均发现靶向抗原的丢失,肿瘤进展^[4,15]。有学者设计了 HER2 和 IL-13R α 2 的双靶点 CAR-T,发现具有更有效的识别肿瘤能力和更加持久的抗瘤活性^[23]。目前,已经研究出三价 CAR-T,可以克服抗原异质性,并改善治疗效果^[24]。

4.2 肿瘤微环境 肿瘤微环境存在很多因素抑制 T 细胞的应答,为了应对微环境产生的免疫抑制因子,例如 TGF- β 、IL-6、IL-10、IL-23 等,一种方法是开发小分子抑制剂和相应的抗体。GBM 会累积许多抑制性白细胞,如调节性 T 细胞、髓样抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞等,用粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子中和髓样抑制细胞,通过节律化疗、阻断 CD25 等方法抑制调节性 T 细胞作用。目前,免疫检查点抑制剂可明显提高免疫治疗的效果^[25]。

4.3 安全性与 BBB CAR-T 的毒性主要包括肿瘤溶解综合征、细胞因子释放综合征、神经毒性、靶标毒性等,安全性是免疫治疗首要考虑的。目前,有研究将分子开关、自杀基因导入到 CAR 中,增强 CAR-T 的安全性。为预防“细胞因子风暴”,有学者用化学分子开关将 CAR 的抗原识别部分和信号传导部分分开,只有在小分子配体(AP21967)存在时被激活^[26],如此依据 AP21967 的剂量和作用时间来调节 T 细胞的毒性和细胞因子的释放。BBB 的存在使通过外周血进入肿瘤的效应 T 细胞不足 10%,是限制 CAR-T 疗效的重要原因。提高 BBB 的通透性和改变输注途径可以明显改善抗瘤效应^[7]。

综上所述,CAR-T 疗法给 GBM 治疗提供了一个新的研究方向,但是仍需要进一步研究 GBM 的分子机制,寻找最优的靶点,设计更多靶点、通用型、增强型的 CAR-T,以及联合其他治疗方法。

【参考文献】

- [1] Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, *et al.* The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" [J]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(7): 896-913.
- [2] Bush NA, Chang SM, Berger MS. Current and future strategies for treatment of glioma [J]. *Neurosurg Rev*, 2017, 40(1): 1-14.
- [3] 杜霞,刁波. 多形性胶质母细胞瘤的免疫治疗[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2017, 22(7): 514-516.
- [4] Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, *et al.* Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels [J]. *Nature*, 2015, 523(7560): 337-341.
- [5] Tu M, Wang W, Cai L, *et al.* IL-13 receptor α 2 stimulates human glioma cell growth and metastasis through the Src/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(11): 14701-14709.
- [6] Brown CE, Badie B, Barish ME, *et al.* Bioactivity and safety of IL13R α 2-redirected chimeric antigen receptor CD8⁺ T cells in patients with recurrent glioblastoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(18): 4062-4072.
- [7] Brown CE, Aguilar B, Starr R, *et al.* Optimization of IL13R α 2-targeted chimeric antigen receptor T cells for improved anti-tumor efficacy against glioblastoma [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(1): 31-44.
- [8] 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.
- [9] Keu KV, Witney TH, Yaghoubi S, *et al.* Reporter gene imaging of targeted T cell immunotherapy in recurrent glioma [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(373): 2196-2203.
- [10] Villa GR, Mischel PS. Old player, new partner: EGFRv III and cytokine receptor signaling in glioblastoma [J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(6): 765-767.
- [11] Morgan RA, Johnson LA, Davis JL, *et al.* Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRv III and development of adoptive cell therapy for glioma [J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23(10): 1043-1053.
- [12] Miao H, Choi BD, Suryadevara CM, *et al.* EGFRv III-specific chimeric antigen receptor T cells migrate to and kill tumor deposits infiltrating the brain parenchyma in an invasive xenograft model of glioblastoma [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): 281-287.
- [13] 郑岩,谢甲贝,曹名波,等. EGFRv III/CAR-T 对 EGFRv III⁺ U87 胶质瘤细胞和裸鼠移植瘤的特异性杀伤作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(4): 334-339.
- [14] O'Rourke DM, Nasrallah MP, Desai A, *et al.* A single dose of peripherally infused EGFRv III-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(399): 984-989.