

· 综 述 ·

嵌合抗原受体 T 细胞治疗胶质母细胞瘤的进展

杨 坤 综述 陈谦学 审校

【关键词】 胶质母细胞瘤;嵌合型抗原受体修饰 T 细胞;免疫治疗;CAR-T
【文章编号】 1009-153X(2021)06-0477-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 739.41

胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)是成人最常见的颅内恶性肿瘤^[1],标准的治疗方案包括最大而安全的肿瘤切除辅以放疗和化疗,但预后很差,中位生存期仅 12~15 个月^[2]。近年来,晚期癌症的治疗更多地转向免疫治疗。目前,有多种形式的免疫治疗,如树突状细胞疫苗、免疫检查点抑制剂和过继 T 细胞疗法(adoptive T cell therapy, ACT)。ACT 包括肿瘤浸润淋巴细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞、工程 T 细胞和嵌合型抗原受体修饰 T 细胞(chimeric antigen receptor modified T-cell, CAR-T)等。CAR-T 是将病人的 T 细胞加工并表达相关嵌合抗原受体后,回输至肿瘤病人体内并对抗原相关肿瘤细胞进行杀伤的一种新型治疗手段。本文就 CAR-T 在 GBM 治疗中研究进展进行综述。

1 CAR-T 疗法简介

CAR-T 治疗是将病人的 T 细胞加工,用重组逆转录病毒载体将编码 CAR 的 RNA 或 DNA 转导至 T 细胞中短暂地或永久地表达,使其表达由胞外肿瘤特异性抗体单克隆片段、胞内信号传导结构域和/或共刺激分子组成的嵌合性抗原受体,回输至肿瘤病人体内,在死亡受体/死亡受体配体的作用下激活死亡受体,分泌破坏肿瘤细胞的穿孔素酶,从而诱导细胞毒性杀伤肿瘤细胞的技术。该疗法综合运用转基因技术、现代 T 细胞分离培养技术和肿瘤生物学技术、T 细胞分离技术培养活化技术等。

CAR-T 治疗血液系统恶性肿瘤,诸如 B 细胞急性淋巴细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、急性髓性

白血病慢性淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤等,有良好的效果^[3],特别是复发或难治性大 B 细胞急性淋巴细胞白血病,其完全缓解率高达 90%。其他实体肿瘤,如非小细胞肺癌、乳腺癌、前列腺癌、胃癌等,也有文献报道^[4]。美国联邦食品药品监督管理局于 2017 年批准 CD19 导向的 CAR-T 用于治疗经过两种或两种以上系统治疗后复发或难治性大 B 细胞淋巴瘤的成年病人^[5]。

CAR-T 主要结构包括:特异性识别肿瘤相关抗原的胞外区、铰链区、跨膜结构域以及细胞内 T 细胞活化/信号域四部分组成。细胞外结构域由单链可变片段组成,来自于抗体的轻链和重链,T 细胞表面将抗体的单链可变片段与 T 细胞受体信号域 CD3 结合,使抗体样抗原识别具有 T 细胞溶细胞活性,肿瘤相关抗原的受体也可作为 CAR-T 胞外的特异性识别功能区,故 CAR-T 能够以非主要组织相容性复合体受限的方式识别抗原,并随后被激活。胞外抗原结合区由来源于单克隆抗体的轻链可变区和重链可变区组成,可特异性识别肿瘤表面抗原,是 CAR-T 特异性基础,其和铰链区连接形成单链抗体。CAR-T 的跨膜区由同源或异源的 CD4、CD8 或 CD28 等二聚体膜蛋白组成,通过 CAR 二聚化以及与内源性 T 细胞抗原受体的相互作用产生的信号,可促进 T 细胞活化,其相连的信号转导区对 CAR-T 的增殖、体内存活时间以及抗肿瘤活性具有重要作用,该区域导入共刺激分子 4-1BB 后,CAR-T 在体内的存活时间显著延长,抗肿瘤效应也显著增强^[6]。

2 CAR-T 疗法的最新发展

20 世纪 90 年代,T 细胞工程作为免疫疗法建立。第一代的 CAR 仅有一个胞内信号组分,CD3 ζ 或者 Fc ϵ RI γ 分子,CD3 不变链的胞质部分包含保守的可磷酸化,产生胞内第一信号,并与胞质蛋白络氨酸激酶 Zap-70 结合,从而启动 T 细胞受体(T cell

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.06.024
基金项目:国家自然科学基金(81572489)
作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(杨 坤、陈谦学)
通讯作者:陈谦学,E-mail:chenqx666@whu.edu.cn

receptor, TCR) 早期信号。由于胞内只有一个活化结构域, 所以, T 细胞不能有效地增殖和分泌细胞因子, 不能产生明显的体内抗肿瘤效应和临床治疗效果。第二代只有一个共刺激分子, 如 CD28、4-1BB。CD28 与靶细胞或抗原提呈细胞表面的 CD80 或 CD86 结合, 产生 T 细胞早期活化的“第二信号”, 细胞外调节蛋白激酶、c-Jun 氨基末端激酶、核因子- κ B 及胞内磷脂酰肌醇激酶-蛋白激酶 B 等可被激活, 使白介素 2、干扰素- γ 等多种细胞因子表达上调^[7], 保持并增强 T 细胞的功能活性, 从而使其对肿瘤的持续杀伤成为可能^[8]。4-1BB 共刺激信号促进细胞因子分泌, 通过影响 CD8⁺ T 细胞, 保证 T 细胞在体内长期生存并保持其记忆功能及各信号通路的激活, 诱导抗凋亡因子的表达。第三代的 CAR-T, 将 CD28 和 4-1BB/OX40 串联起来与 CD3 ζ 链连接, 将早期活化信号与持续活化信号相结合, 持续增强细胞活力。第四代 CAR 通过联合细胞因子或共刺激分子的配体, 这些细胞因子在增强 CAR-T 的扩张和持久性的同时, 使其对免疫抑制肿瘤环境具有抵抗力^[9]。

基因编辑技术, 如转录激活因子样效应物核酸酶和基因编辑技术系统, 可修改 T 细胞基因组。这些技术可以通过靶向破坏基因, 如负 T 细胞调节因子, 也可增强某些基因来强化 CAR-T 功能及活性^[10]。有研究显示, 通过转基因过表达白介素-15, 能促进 T 细胞的活化, 从而提高 CAR-T 的体外持久性, 过表达细胞因子受体, 如白介素-7 受体, 也显示出良好的效果^[11]。

在肿瘤微环境中, 治疗性和内生性激活的 T 细胞都受到免疫检查点抑制水平升高的影响, 联合使用程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1)/程序性死亡受体-配体 1 (programmed cell death-ligand 1, PD-L1) 的阻断抗体有望提高 CAR-T 的抗肿瘤效果。检查点阻断治疗实体肿瘤, 如非小细胞肺癌和转移性黑色素瘤, 具有一定的效果。T 细胞免疫球蛋白黏液素 3、淋巴细胞激活基因-3、细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 和 PD-1 等免疫检查点蛋白在美国于 2011 年批准用于相关肿瘤的治疗。肿瘤细胞在受到免疫攻击后会上调免疫抑制性配体, 如 PD-L1 的表达, 这些配体与 CAR-T 的相应受体如 PD-1 结合, 可明显抑制 T 细胞的杀伤活性, 从而减弱其抗肿瘤效果, 敲除 PD-1 均可显著增强抗肿瘤活性和对肿瘤微环境的耐受性^[12, 13]。除了在 T 细胞表面表达负调控因子外, 细胞内信号分子也被用

作 CAR-T 敲除的潜在靶点。二酰基甘油激酶通过二酰基甘油的代谢负调控 CAR-T 活化, 从而抑制相应细胞内信号通路。

单一靶向抗原的 CAR-T 治疗会使肿瘤组织靶抗原下调进而导致肿瘤复发, 靶抗原下调和或抗原阴性肿瘤细胞克隆扩增可能是这一现象的原因。CAR-T 靶向多个抗原的一种方法是使用双抗原靶向 CAR, 在一个 CAR 结构中包含两个抗原靶向域。Hegde 等^[14]描述一种将人表皮生长因子受体-2 和白介素 13 受体 α 2 等两个胶质瘤相关抗原结合一起的 CAR-T 对肿瘤的杀伤能力大大增强并使肿瘤复发的减少。而添加酪氨酸蛋白激酶受体 A2 抗原共识别的 CAR-T 比双特异性 CAR-T 更有效^[15]。多肿瘤相关抗原在临床前动物模型中及部分临床试验中取得了较好的结果^[16]。

3 CAR-T 疗法在 GBM 中的运用及面临的困难

传统观点认为设计 CAR-T 治疗 GBM 的主要挑战之一是血脑屏障的半渗透性, 使 CAR-T 在肿瘤组织中的浸润存在困难, 但 Mount 等^[9]通过大鼠研究发现, CAR-T 治疗中活化的 T 细胞可以渗透到中枢神经系统并抵达肿瘤区域。血脑屏障由专门的内皮细胞组成, 可以阻止大型亲水分子和不需要的细胞进入大脑。目前几乎所有 GBM 的 CAR-T 试验都是采用静脉途径, 但 GBM 血脑屏障破坏, 在肿瘤的某些区域形成异常血管, 在临床实践中也可以考虑通过手术方式直接将 CAR-T 送入肿瘤区域。

GBM 周围混合有实质间质细胞、非肿瘤性星形胶质细胞、多种浸润性炎症细胞、内源性神经干细胞和祖细胞。肿瘤体积的大部分由肿瘤相关的小胶质细胞/巨噬细胞组成, 促进胶质瘤的迁移、侵袭和肿瘤生长。GBM 微环境中巨噬细胞和骨髓源性抑制细胞, 在指导免疫抑制反应中也起重要作用。胶质瘤干细胞在肿瘤微环境中也很重要, 是肿瘤增殖、维持和治疗耐药的关键因素。CAR-T 输注后, GBM 吲哚胺 2,3-双加氧酶等免疫抑制分子上调, 导致 T 细胞持久性较差^[15]。因此, 可能需要专门针对中枢神经系统独特的免疫抑制环境制定相应的方案, 以便更好地开发 CAR-T。

CAR-T 成功治疗实体瘤的报道还很少, 细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS) 是 CAR 治疗中最常见的和最严重的毒性之一, 其由高水平的免疫激活引起。CRS 反应强烈的严重损伤或死亡案例主要见于静脉 CAR-T 治疗, 故安全性将是

该疗法考虑的首要因素。

脱靶效应是 CAR-T 疗法存在的另一个重要困难。如人表皮生长因子受体-2 在正常肺组织表达，有文献报道使用人表皮生长因子受体-2 的 CAR-T 治疗后出现呼吸衰竭、多器官衰竭，并随后死亡^[17]。由于肿瘤细胞的异质性、高突变性和肿瘤相关抗原的表达谱在治疗后可能发生改变。在接受白介素 13 受体 α 2CAR-T 治疗的病人中，治疗后对肿瘤组织的分析显示白介素 13 受体 α 2 的总体表达降低^[18]。

总之，CAR-T 治疗肿瘤的临床应用还处于起步阶段，其在 GBM 与在其他实体肿瘤运用中遇到的困难相似，寻找肿瘤特异性抗原、减轻 CAR-T 对正常细胞攻击产生的脱靶效应、抑制经修饰后的 CAR-T 可能潜在的在体内的免疫排斥反应、克服对肿瘤实体的浸润和在肿瘤内的免疫抑制微环境的障碍，是 CAR-T 治疗 GBM 的挑战性因素。

【参考文献】

[1] Ostrom QT, Gittleman H, Stetson *et al.* Epidemiology of gliomas [J]. Cancer Treat Res, 2015, 163: 1-14.

[2] Ostrom QT, Bauchet L, Davis FG, *et al.* The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" review [J]. Neuro Oncol, 2015, 17(4): 623-624.

[3] Bair SM, Porter DL. Accelerating chimeric antigen receptor therapy in chronic lymphocytic leukemia: the development and challenges of chimeric antigen receptor T-cell therapy for chronic lymphocytic leukemia [J]. Am J Hematol, 2019, 94(S1): 10-17.

[4] Kloss CC, Lee J, Zhang A, *et al.* Dominant-negative TGF-beta receptor enhances PSMA-targeted human CAR T cell proliferation and augments prostate cancer eradication [J]. Mol Ther, 2018, 26(7): 1855-1866.

[5] Bouchkouj N, Kasamon YL, de Claro RA, *et al.* FDA approval summary: axicabtagene ciloleucel for relapsed or refractory large B- cell lymphoma [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(6): 1702-1708.

[6] 郑 晓, 蒋敬庭. CAR-T 细胞治疗的现状与临床应用前景[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(7): 655-660.

[7] Diehn M, Alizadeh AA, Rando OJ, *et al.* Genomic expres-

sion programs and the integration of the CD28 costimulatory signal in T cell activation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(18): 11796-11801.

[8] Rosenberg SA. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer [J]. J Immunol, 2014, 192(12): 5451-5458.

[9] 葛玉凤, 韩东晖, 吴介恒, 等. CAR-T 细胞治疗用于实体瘤的研究进展[J]. 转化医学电子杂志, 2017, 4(10): 50-55.

[10] Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, *et al.* Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection [J]. Nature, 2017, 543(7643): 113-117.

[11] Shum T, Omer B, Tashiro H, *et al.* Constitutive signaling from an engineered IL7 receptor promotes durable tumor elimination by tumor-redirectioned T cells [J]. Cancer Discov, 2017, 7(11): 1238-1247.

[12] Ren J, Liu X, Fang C, *et al.* Multiplex genome editing to generate universal CAR T cells resistant to PD1 inhibition [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(9): 2255-2266.

[13] 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.

[14] Hegde M, Mukherjee M, Grada Z, *et al.* Tandem CAR T cells targeting HER2 and IL13Ralpha2 mitigate tumor antigen escape [J]. J Clin Invest, 2016, 126(8): 3036-3052.

[15] Bielamowicz K, Fousek K, Byrd TT, *et al.* Trivalent CAR T cells overcome interpatient antigenic variability in glioblastoma [J]. Neuro Oncol, 2018, 20(4): 506-518.

[16] 白 玥, 钟晓松, 李文斌. 嵌合抗原受体 T 细胞治疗多形性胶质母细胞瘤的最新进展[J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(16): 794-799.

[17] Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management [J]. Blood, 2016, 127(26): 3321-3330.

[18] Brown CE, Badie B, Barish ME, *et al.* Bioactivity and safety of IL13Ralpha2-redirectioned chimeric antigen receptor CD8⁺ T cells in patients with recurrent glioblastoma [J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(18): 4062-4072.

(2019-06-23 收稿, 2019-10-28 修回)