



CAR-T 细胞技术的研发及临床应用前景

赵琳, 赵新汉

(西安交通大学第一附属医院肿瘤内科, 西安 710061)

[摘要] 近年来,嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)在血液系统肿瘤治疗中显现出强大的治疗效果,并且为晚期和罕见恶性肿瘤的治疗带来了新的希望,将有可能最终实现肿瘤治愈这个终极目标。从结构和功能出发,有助于更清楚地了解 CAR-T 细胞技术的应用与研发,以及 CAR-T 技术目前存在的研发与应用瓶颈。恰当的靶标分子的选择和优化、安全有效的载体设计、免疫杀伤细胞的合理改造、治疗中不良反应的防治以及更多基因编辑技术的引入,将会使 CAR-T 疗法更加广泛地应用于临床。CAR-T 细胞技术的研发空间还非常广阔,包括抗病毒及针对肿瘤干细胞等的研发都非常值得期待。

[关键词] 嵌合抗原受体;嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法;结构与功能;肿瘤

[中图分类号] R979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2096-3327(2020)02-0001-07

DOI 10.3969/j.issn.2096-3327.2020.2.001

The Development and Clinical Application Prospects of CAR-T Cell Technology

ZHAO Lin, ZHAO Xin-han

(Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

[Abstract] Chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy (CAR-T) has shown to be a powerful therapeutic strategy in the treatment of blood system tumors in recent years. And it has brought new approach and hope for the treatment of advanced or rare malignant tumors. Starting from the structure and function of the CAR-T, we will be more aware of the application, development and the bottleneck of the technology. It is believed that the technology will be more widely used in clinical to benefit patients, since more appropriate target molecules are selected and optimized, more safe and effective vectors are designed, more reasonable immune killer cells are modified, more effective methods are used to prevent the side effects, and more gene editing technology are introduced. The research and development space of the technology are very broad, including the usage in the anti-virus treatment and cancer stem cells research.

[Key words] chimeric antigen receptor; chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy; structure and function; tumor

CAR-T 疗法全称为 chimeric antigen receptor T-

cell immunotherapy,即嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法。这一概念最早由 Gross 等^[1]于 1989 年提出,经过近几年连续改进并发展后得到了非常快速的进步。CAR-T 细胞技术属于过继 T 细胞疗法的一种,但其鲜明的特点在于可使 T 细胞表面嵌合抗原受体,从而引导 T 细胞靶向杀伤肿瘤细胞。相对于传统过继细胞疗法而言,CAR-T 细胞技术可以绕过抗原递呈,进入人体后能长期存活或继续繁殖。由于 CAR-T 细胞疗法展现出极强的技术属性和良好的

[收稿日期] 2020-01-07

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81672626)

[作者简介] 赵琳,女,在读博士研究生,研究方向:肿瘤侵袭与转移相关基因的基础研究。联系电话:(029) 85935329, E-mail: linzhao0202@163.com。

[通讯作者] 赵新汉,男,二级教授,主任医师,研究方向:肿瘤相关基因的基础与临床研究。联系电话:(029) 85292109, E-mail: zhaoxinhan@163.com。



复制性,并且已经在血液系统肿瘤治疗中表现出良好的临床疗效,优于现有的其他免疫细胞治疗肿瘤的疗效,吸引了越来越多的研发机构及临床中心投入其中并开展大量临床试验。本文将着重从结构和功能出发,对 CAR-T 细胞技术的研发与应用做出部分阐述,并对发展迅猛的 CAR-T 技术进行展望。

1 CAR-T 的整体结构与功能

经典的嵌合型抗原受体 CAR (chimeric antigen receptor, CAR) 可分为 5 个部分,即识别肿瘤抗原的抗体单链可变区、铰链区、跨膜区、共刺激区和 T 细胞活化区。CAR-T 细胞技术通过外源基因转染技术转染到患者的 T 细胞或者改造的 T 细胞,把识别肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA) 的单

链抗体 (single-chain variable fragment, scFv) 和 T 细胞活化序列 (通常为 CD3 ζ 或 Fc ϵ RI γ) 的融合蛋白表达达到 T 细胞表面。scFv 通过跨膜区与 T 细胞胞内的活化增殖信号域偶联。这些改造的 T 细胞再经过体外纯化和大规模扩增后回输到患者体内,最终以非主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 限制性模式表现强效的抗癌作用。CAR-T 细胞作用过程不受 MHC 限制,这在一定程度上使得 CAR-T 细胞技术具有多靶点性,而且对表达相同抗原的肿瘤均具有识别杀伤能力。迄今, CAR-T 细胞技术主要经历了 4 代研发历程,但有研究提出第 V 代应为通用型嵌合抗原受体,具体见表 1。

表 1 CAR-T 细胞技术比较

CAR-T 代数	CAR-T 因子修饰	效用
第一代	CD3 ζ	体外 T 细胞激活,具有常规 T 细胞杀伤毒性,但在体内无法增殖与长期存活
第二代	CD3 ζ +CD28/CD134/CD137	加入一个共刺激分子,体内存活时间延长,增殖能力、杀伤毒性提高
第三代	CD3 ζ +CD28/CD134/CD137 +CD28/CD134/CD137	加入 2 个不同的共刺激分子,增殖能力、杀伤毒性进一步提高
第四代	自杀基因/CAR-T (IL-12)/PD-1 敲除等	自杀基因编辑、免疫因子改造等各种整合性、精细化调控手段
第五代	通用 CAR-T, 基因编辑	无个体限制,规模化生产与治疗

现有研究表明, T 细胞的完全活化有赖于双信号和细胞因子的作用,例如仅含有 CD3 ζ 序列的 CAR, 仍需在协同刺激信号的作用下,才能激活 CAR-T 细胞,这可能是第一代 FRa CAR-T 细胞在 I 期临床试验对晚期卵巢癌的抗肿瘤作用无效的主要原因^[2]。为此,第二和第三代 CARs 在嵌合受体上加了如 CD28、CD134 和 CD137 等共刺激分子 (costimulatory molecule, CM), 从而使 T 细胞激活, T 细胞的杀伤毒性和增殖活性明显增加,并且延长了 T 细胞的存活时间。CD28、CD134、CD137 等共刺激分子在 CAR 作用中究竟孰优孰劣,研究结果不尽相同^[3-4]。有研究认为, CD28 的刺激可使 CD4 T 细胞保持中心记忆性细胞状态, CD137 促使 CD8T 中心记忆性细胞增殖^[5-6]。第四代 CAR-T 细胞技术,包括自杀基因、整合表达免疫因子、整合共刺激因子配体等精确调控方式的加入,可能有含 CD28 的 3 个不同的共同刺激因子加入。整体上,第四代 CAR-T 细胞技术的研究目前更多地集中在基因修饰及免疫微环境改造层面,基因修饰 (如自杀式人工调控开关的研究) 方面取得了可观的成绩^[7],如,磷酸肌醇

3 激酶 (PI₃K) 抑制剂的引入、MegaTAL 基因编辑技术敲除 TCR、PD-1 敲除、CRISPR-Cas 技术的引入等。免疫微环境改造是第四代 CAR 调控 T 细胞的主要研究目的之一,例如,让第四代 CAR-T 共表达一个白介素-12 (IL-12) 因子,让 IL-12 在靶点局部表达,改善免疫治疗微环境,激活邻近的自然杀伤 (NK) 细胞、浸润的 T 细胞等^[8],从而激活内源性抗肿瘤反应。通用 CAR-T 细胞技术的研究将会引入更多的基因编辑技术,最大化地突破移植抗宿主病 (GVHD) 这个瓶颈,最终为 CAR-T 细胞技术的规模化应用奠定基础。

2 CAR-T 的结构组分研究

2.1 scFV 研究

嵌合型抗原受体 CAR 结构的第一个关键部位是膜外区上具有特异性识别并结合肿瘤细胞表面抗原的 scFv, 其形式为 VH-Linker-VL 或 VL-Linker-VH。目前能获得的最小的具有特异性识别又能结合抗原的分子为 scFv^[9], 其大小约为 28KD。scFv 既可以与纳米微球结合,也可以与各种已知的靶向治疗药物结合。直到 CAR 开发后, scFv 的独特作用



才再一次引起人们的极大关注。对靶标分子及修饰性目的分子的亲和淘选是目前获得较特异的 scFv 片段分子的有效方式。其中,较为常用的筛选方法包括 DNA 文库、噬菌体文库、核糖体展示文库等筛选文库技术。靶点的选择还可应用人源化抗体和亲和力优化,主要技术为噬菌体抗体技术、嵌合抗体技术、基因工程抗体技术等。scFv 亲和淘选及识别靶点既可以利用肿瘤蛋白质抗原,又可利用糖脂类非蛋白质、碳水化合物或肿瘤特异性受体的配体等。目前世界范围内多个中心研究较多的靶点为特定或某一类肿瘤相关抗原,而实体瘤的靶向选择主要包括突变的抗原或病毒抗原、组织特异性抗原、组织发育特异性抗原、过表达的抗原等^[10]。综合来看,目前常用的研究靶点有:① CD 分化抗原系列:CD19 (最常见)、CD20、CD22、CD30、CD33、CD107a、CD171、CD123、CD133、CD138、CD317 等;② 肿瘤标志物系列:CA125、CEA、AFP、PSMA;③ 表皮生长因子系列:Her-1、Her-2、EGFR 等;④ 突变基因、酶类及其他:GD2、Mesothelin、MAGE-A3、MUC-16、ROR-1、GPC3、DR5、TIPE3、MAGE-A3、IL-13Ra2、c-MET、CAIX 等。一些改造的靶点研究在实体瘤中发展较快,如表皮生长因子受体 III 型突变体(EGFRvIII)治疗胶质瘤患者的临床试验正在进行中;Eureka Therapeutics 公司开发了专门识别 HLA-A02 限制的 AFP 抗原多肽的人源化单克隆抗体进行人源化噬菌体文库筛选^[11]。随着研究的进展,一些新的肿瘤靶点也被提出,成纤维细胞激活蛋白在众多肿瘤间质中高表达,靶向该蛋白的 CAR-T 细胞能抑制小鼠肿瘤的生长,且无细胞毒性^[12]。Tran 等^[13]以全基因组测序的方法,免疫靶向胆管细胞癌患者体内具有个体特征的肿瘤突变抗原靶点(*erbB2* 基因突变),患者病情得到控制并在观察的 6 个月内持续缓解。

靶点的选择及 scFv 的设计目前仍有很多问题亟待解决,尤其是在目前实体瘤无特异性靶点的现状下。在亲和性方面,增强 CAR 抗原亲和力会提高肿瘤靶向性并伴随抗原表达下调和 T 细胞激活增加,但高亲和力的 CAR 与抗原的结合过于紧密,反而导致效应 T 细胞结合多种目标分子受限,从而限制杀伤效力。在疗效方面,当前研究设计大都针对已知的相对较好的肿瘤相关抗原,仍缺少肿瘤特异性抗原。优化抗原筛选是靶向实体肿瘤领域的重要组成部分,但修饰后的治疗可能会导致肿瘤抗原呈递下调甚至缺失,进而导致肿瘤免疫逃逸。在靶向

杀伤的进化选择上,由于实体肿瘤可能有很多靶点阴性的细胞,因此杀伤靶点阳性的细胞后,靶点阴性的细胞可能会成长。有研究指出,唤醒浸润的 T 细胞才能杀伤靶点阴性的肿瘤细胞。在鼠源性方面,目前的 CAR 大多基于鼠源抗体的 scFv 进行设计,这种异源模型可能会诱发宿主抗 CAR 反应。将 scFv 片段人源化或利用人源抗体设计 CAR 是阻止这种反应的可能策略之一。另外,特异性 scFv 的设计和获得,也是一个较为长期而反复的筛选过程。

2.2 载体设计研究

目前应用最多的 CAR-T 细胞技术仍是以病毒作为载体中介^[14],其中最为常见的仍是反转录病毒和慢病毒。两者均具有出色的基因转导效率,而慢病毒的感染效率更高,表达更持久且能传递大片段 DNA 序列^[15]。人们对其他病毒也有研究,如 Pule 等^[16]报道了尝试使用 EB 病毒转化第一代 CAR-T 细胞,取得了一定的疗效。溶瘤病毒(oncolytic virus, OV)作为载体的研究目前已取得了可喜的进展,这得益于溶瘤病毒能选择性感染肿瘤细胞,并在其中复制且杀伤肿瘤细胞,但不会伤及健康组织。改造的 T 细胞装载 OV 可能是一种能提高疗效的新的联合疗法^[17]。就病毒载体的安全性而言,研究表明在小鼠和人 T 细胞中, CAR-T 细胞负载低剂量病毒不会影响受体的表达和功能^[18-19],但仍需更长时间观察病毒载体是否会带来有害的插入性突变。

与病毒载体相比,质粒载体的构建花费较少,而且不会整合到宿主的基因组中,安全性有一定保证。但是,质粒载体的构建需要花费更多时间,如需要一个长期的体外培养和抗性筛选过程,人类对质粒载体的抗性基因的免疫反应等限制了其临床应用研究。在物理呈递和化学诱导方面,电穿孔技术适用性较广,安全性较高,但效率较低的缺点较明显^[20]。分子技术层面转染 CAR-T 细胞进展很快,如为体外转录编码 CAR 的 mRNA、微环 DNA 等都作为转导载体进行研究,特别在第四代 CAR-T 细胞技术的研究中,基因工具“睡美人”(SB)转座子系统^[21-22]及 Piggybac 转座子系统^[23]的进展较快。

2.3 效应细胞设计研究

一个典型的 CAR-T 治疗流程包括 T 细胞分离、修饰、扩增、回输和监控,因此 T 细胞的获得、改造和培养贯穿 CAR-T 治疗的全过程。T 细胞可来源于自体或者是健康异体,而自体来源限制了质量的规模化、需要一定的患者条件、增加了治疗的花费和



时间成本。如果采用志愿者的 T 细胞,需要克服异体排斥反应。因此基因编辑改造在 CAR-T 细胞技术中被逐步开发应用。英国研究人员运用 TALEN 基因编辑方法,使 T 细胞的 2 个关键基因失活。一个是 T 细胞上原有的识别基因,它的失活使得 T 细胞不会攻击肿瘤细胞以外的目标,大大降低了不必要的异体免疫反应。另一个是 T 细胞膜蛋白基因,它的失活可以保护改造后的 T 细胞免遭特定药物破坏。这种被修改了免疫特性的 T 细胞,针对靶点 CD19 成功治疗了 1 例晚期急性淋巴白血病患者^[24]。因此,应用“基因编程”技术的异体 CAR-T 细胞技术可能会解决 CAR-T 细胞的大量生产问题。随着对 T 细胞的进一步认识,将会有更多的基因编辑技术应用于 T 细胞改造,如 TALEN 基因编辑技术应用于 T 细胞,可敲除 *TCR-alpha* 基因(降低 GVHD)、*CD52* 基因(使细胞对 alemtuzumab 耐药)和 *RQR8*(自杀基因,可增加细胞对 rituximab 的敏感性)。已经设计成功的严格控制 T 细胞行为的“分子开关”的突破性成果,有望解决 T 细胞治疗后出现严重不良反应的问题^[7,25]。

在 T 细胞类型及输注方式上,研究发现 CD8⁺ CAR-T 细胞可以有效溶解肿瘤细胞,而 CD4⁺ CAR-T 细胞会促进细胞因子大量产生,其中初始 CD4⁺ T 细胞可产生大量 IL-2 来刺激 CD8⁺ T 细胞^[26]。CD4⁺ T 细胞与 CD8⁺ T 细胞以 1:1 的比例构成的混合细胞产物可完全根除 Raji 淋巴瘤^[26]。对 T 细胞进行改造将是近年来效应细胞的发展方向之一^[27]。另一个用于 CAR 免疫治疗来源的 T 细胞是 $\gamma\delta$ T 细胞系列。这类 T 细胞识别抗原不同于包括通过 $\alpha\beta$ TCR 识别异基因抗原的蛋白质衍生肽,因此, $\gamma\delta$ T 细胞具有较低的同种异体反应性,但是显示出较好的抗肿瘤作用^[28]。一般回输 T 细胞前,需要对患者进行预处理,主要是通过调节化疗延长过继 T 细胞的存在时间。基于安全性考虑,凯特琳癌症研究中心将 T 细胞过继调整为化疗后 2 天;而美国国家癌症研究所认为低剂量化疗联合 CAR-T 疗法对进展性 B 细胞淋巴瘤效果较好。目前,重组 T 细胞的回输方式主要是静脉回输,采用腹膜或瘤体注射的研究大部分还处在试验阶段,而采用微创介入或瘤内注射的方式可使 CAR-T 细胞更多地进入实体瘤内部对靶细胞进行有效杀伤,可能是未来 CAR-T 治疗实体瘤的方向之一。

嵌合抗原也不仅仅只是修饰 T 细胞,它还可以

修饰细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)、NK 等效应细胞^[28]。Chu 等^[29]利用针对 CS1 靶点的 CAR-NK 细胞在多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)的体内外实验研究中获得了突破性疗效,而且 CAR-NK 细胞与 CAR-T 细胞治疗一样会产生 IFN- γ 等效应因子。NantKwest 公司拥有以 NK 细胞治疗为核心的三大技术平台 aNK、haNK 和 taNK。NK 不表达杀伤细胞抑制性受体(killer inhibitory receptor, KIR),进而避免其活性被靶细胞表面的 MHC 抑制。有研究开始探究将造血干细胞基因修饰成 CAR-T 的可行性,在 HSCT 过程中采用这种 CAR-T 可能尤其有利。

3 临床应用研究

CAR-T 细胞技术在难治愈急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、骨髓增生异常综合征(MDS)等血液肿瘤的治疗方面已显示出良好的潜力,已成为目前唯一有希望根治恶性血液病且不依靠 allo-HSCT 的新型技术,也是连接移植的重要桥梁或移植后清除残存肿瘤细胞的重要武器。Porter 等^[30]采用 CLT019 治疗晚期慢性淋巴细胞白血病患者 6 个月的无进展生存率达 67%,持续缓解时间超过 10 个多月,最长的完全缓解时间达到 2 年。一项特异性靶向 CD19 分子的 CAR-T 细胞技术能有效治疗急性 B 细胞性恶性肿瘤,其治疗的 16 例患者的完全缓解率为 88%,大多数患者接受 CAR-T 细胞技术治疗以后可以继续 HSC 移植^[31]。CTL019 在治疗特定类型的难治性非霍奇金淋巴瘤方面已显现特有的潜力。诺华公司公布了可评估的 15 例弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)、11 例滤泡性淋巴瘤(follicular lymphoma, FL)成人患者接受 CTL019 治疗 3 个月时的 II 期临床研究数据。结果表明,r/rDLBCL 患者组的总缓解率为 47%($n=7/15$),FL 患者组的总缓解率为 73%($n=8/11$)^[32]。部分已发表的研究分析显示,骨髓有明显肿瘤浸润的恶性血液病患者更易获得缓解^[30]。研究发现,1 例中枢神经系统白血病(CNS-L)患者经 CAR-T 治疗后,脑脊液中的白血病细胞得到有效清除^[33]。研究显示^[34-35],输注的 CAR-T 细胞可以在患者外周血和骨髓中大量存活,有效清除功能可维持 6 个月以上,且部分 CAR-T 细胞以记忆效应细胞的形式存在。CAR-T 细胞有可能为治疗 CNS-L、原发性 CNS-L 以及脑肿瘤提供新的治疗方向。



实体瘤研究也取得了部分令人欣喜的成绩。研究发现,针对间皮素(mesothelin)蛋白设计的 CAR-T 细胞技术治疗胰腺癌动物的平均生存期 96 天,较对照组平均生存期 54 天提高了 78%^[36]。间皮素也在三阴性乳腺癌和肺癌中高表达,CAR-T 细胞技术在这 2 个领域中的应用正在探索中。在 2015 年美国临床肿瘤学会年会上,公布了 CAR-T 细胞技术首次在实体瘤胰腺癌治疗上的突破,6 例受试者中有 1 例转移灶部分消失,4 例肿瘤代谢趋于稳定或降低,并且发现相应的 CAR-T 细胞已经转移到患者肿瘤部位^[37]。一项针对 19 例复发或转移的 Her-2 阳性肉瘤患者采用 HER2-CAR T 细胞治疗的 I/II 临床试验显示^[38],CAR-T 治疗实体肉瘤后细胞存活超过 6 周且无明显毒性反应,患者的中位生存期达 10.3 个月(5.1~29.1 个月)。检测的 2 例患者肿瘤组织中均检测到 CAR-T 细胞。17 例可评估的患者中,4 例患者有 3~14 个月的疾病稳定期,3 例患者肿瘤切除,其中 1 例患者观察到肿瘤超过 90% 坏死的临床病理表现。

4 毒副反应及技术缺点

4.1 细胞因子释放综合征

CAR-T 细胞技术在临床应用中一个最主要的不良反应是细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS),其主要原因是 CAR-T 细胞技术在短时间内清除很多癌细胞,产生大量的细胞因子,从而引起免疫反应。同时,T 细胞大量增殖引起的细胞因子释放,导致机体出现发热、肌痛、低血压、呼吸衰竭等症状,严重时危及生命^[39]。有研究观察到 CRS 与疾病进展程度或者肿瘤负荷相关,在高疾病负荷的患者体内,往往有较高的细胞因子释放。总体而言,第二代和第三代 CAR 较容易触动自身抗原而引起致命的 CRS。严格按 I 期临床试验递增方案(爬坡试验),起始剂量选择较低数量的 T 细胞可防止速发的、严重的毒性反应。此外,利用 IL-6 受体拮抗药物托珠单抗(tocilizumab)以及激素预防能够缓解该症状^[31]。应注意的是,激素冲击会降低 CAR-T 的疗效。

4.2 靶向/脱靶毒性

CAR 方法治疗相关毒性多是肿瘤相关抗原特异性 T 细胞“脱靶”识别了患者正常组织低表达的自身抗原所致,如 B 细胞血液病治疗中瞄准 CD19 分子引起的低丙种球蛋白血症,这也是 CAR-T 细胞过继后续反应的一个间接证据^[31,33]。此外,治疗上

仍有 5%~10% 的患者缺失 CD19 抗原,从而逃避 CD19-CAR-T 细胞的识别和杀伤,导致脱靶。另外,靶向 Her-2 的 CAR-T 细胞治疗可导致肿瘤部位以外的其他组织或器官遭受攻击,例如可能产生的心肺系统毒性^[39]。

4.3 神经系统毒性及其他细胞毒性

CAR-T 治疗白血病会引起神经系统症状,这些症状具有多样性,如谵妄、语言障碍、运动障碍、缄默症、癫痫发作、肝性脑病等^[31-32],部分症状可自行消退。也有 CAR-T 引起机体自身免疫性疾病风险的报道。在患儿 CAR-T 治疗中,部分研究观察到巨噬细胞激活综合征^[39,49]。

4.4 实体瘤治疗效果较差

目前最成功的 CD19-CAR-T 已经在恶性血液疾病中取得了不错的效果,对于实体肿瘤的治疗效果则较差。实体瘤治疗的主要难点集中在:① 必须寻找实体瘤特异性抗原,不能侵害正常组织,这样静脉回输 CAR-T 细胞后,T 细胞才能归巢到肿瘤位置。② CAR-T 必须侵入实体瘤内部发挥作用,但即使进入肿瘤后,内环境中的浸润性的调节性 T 细胞(Treg 细胞)、肿瘤相关巨噬细胞、程序性死亡配体 PD-L1 高表达、抑制性细胞因子(比如白介素 10、TGF β),可能会抑制对其进行杀伤的各类 T 细胞。CAR-T 细胞也会高表达程序性死亡受体 PD-1。最近的临床试验在实体瘤特别是胰腺癌和肉瘤方面取得了不错的进展,再次证实 CAR-T 细胞能够迁移到实体肿瘤及肿瘤周围^[36-38]。有研究认为改造后的 T 细胞还能表达次生 CAR^[29],从而更有效地定位于发病部位。克服实体瘤治疗效果差的临床试验正在进行中,针对晚期以及疗效较差的实体瘤的临床试验有可能取得较好的进展。

4.5 其他

CAR-T 需要对每例患者进行个体化治疗,因此存在治疗价格偏高、疗效不确定和不稳定等问题^[40-41]。CAR-T 临床试验各个中心的结果不一致,标准化治疗之路任重而道远。CAR-T 治疗后复发也需要关注,其长期疗效和安全性有待进一步研究。

5 总结及展望

CAR-T 细胞技术可能是从实验室到临床应用最快的一项技术,极大地促进了转化医学的发展。相较于化疗药物和靶向药物,CAR-T 的靶向性更强,并且可以通过技术修饰达到多靶向。免疫靶向治疗的多个优点有助于治疗某些预后极差的罕见肿



瘤。我们有理由相信,随着未来技术的成熟、CAR 组件的进一步改进以及治疗成本的逐渐下降,CAR-T 细胞技术很有可能成为医院和门诊的常规治疗方式。而且,CAR 的研究并不局限于肿瘤,在目前的难治性疾病治疗瓶颈中,CAR-T 细胞技术都将可能是我们攻克难治性疾病的有效武器,如抗 HIV 等病毒的治疗研究^[42]。

CAR-T 细胞技术的升级换代一直在持续研发中,每一个组件的进步都可能带来更多的临床获益。近年来快速发展的生物技术,也是 CAR-T 细胞技术成熟的推动力。随着未来肿瘤治疗的希望必然是构建在基于免疫疗法的联合治疗之上的观点的提出,相信将会有更多的生物技术投入到肿瘤免疫治疗的研究中。通用型 CAR-T 的研发将可能解决临床上的规模化应用问题,即采用正常第三方细胞来源的 T 细胞,通过敲除内源性 TCR 基因,排除同种异体 TCR 导致的移植物抗宿主病,且能进一步提高 CAR-T 的杀肿瘤效率^[43-44]。产生双特异性衔接分子的 CAR-T(ENG-CAR-T)细胞具有更强、更持久的抗肿瘤作用^[45]。多靶标 CAR-T 细胞技术在临床前实验中显示出更强的抗癌效应^[46]。

干细胞技术的进步将进一步丰富 CAR-T 疗法。肿瘤干细胞是肿瘤复发的根本,可以预测设计针对肿瘤干细胞的靶向治疗是今后的又一重要研究方向^[47]。此外,T 记忆细胞的筛选将会应用更多,尤其是中央记忆性 T 干细胞的研究。Themeli 等^[48]首次利用诱导重编程干细胞(induced pluripotent stem cell,iPSC)技术获得靶向肿瘤细胞的 T 干细胞。该研究从正常外周血采集 T 细胞,通过逆转录病毒转导法导入 OCT-4、SOX2、KLF4 和 c-MYC,使 T 细胞重编程为 T-iPSC;再通过慢病毒载体将编码针对 CD19 的 CAR 的目的基因片段插入 T-iPSC,进一步诱导分化为同时表达 CD19-CAR 和内源性 TCR 的初始 T 细胞。

[参 考 文 献]

- [1] GROSS G, WAKS T, ESHHAR Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86 (24):10024-10028.
- [2] KERSHAW MH, WESTWOOD JA, PARKER LL, et al. A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12 (20 Pt 1): 6106-6015.
- [3] SAVOLDO B, RAMOS CA, LIU E, et al. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121 (5):1822-1826.
- [4] PULE MA, STRAATHOF KC, DOTTI G, et al. A chimeric T cell antigen receptor that augments cytokine release and supports clonal expansion of primary human T cells [J]. *Mol Ther*, 2005, 12 (5): 933-941.
- [5] FESNAK AD, JUNE CH, LEVINE BL. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16 (9):566-581.
- [6] JUNE CH, MANS MV, PLESA G, et al. Engineered T cells for cancer therapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63 (9): 969-975.
- [7] CASUCCI M, BONDANZA A. Suicide gene therapy to increase the safety of chimeric antigen receptor-redirected T lymphocytes [J]. *J Cancer*, 2011, 2: 378-382.
- [8] PEGRAM HJ, LEE JC, HAYMAN EG, et al. Tumor-targeted T cells modified to secrete IL-12 eradicate systemic tumors without need for prior conditioning [J]. *Blood*, 2012, 119 (18): 4133-4141.
- [9] GIRGIS MD, FEDERMAN N, ROCHEFORT MM, et al. An engineered anti-CA19-9 cys-diabody for positron emission tomography imaging of pancreatic cancer and targeting of polymerized liposomal nanoparticles [J]. *J Surg Res*, 2013, 185 (1): 45-55.
- [10] TURTLE CJ, RIDDEU SR. Genetically retargeting CD8+ lymphocyte subsets for cancer immunotherapy [J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23 (2):299-305.
- [11] RUSHWORTH D, JENA B, OLIVARES S, et al. Universal artificial antigen presenting cells to selectively propagate T cells expressing chimeric antigen receptor independent of specificity [J]. *J Immunother*, 2014, 37 (4): 204-213.
- [12] WANG LC, LO A, SCHOLLER J, et al. Targeting fibroblast activation protein in tumor stroma with chimeric antigen receptor T cells can inhibit tumor growth and augment host immunity without severe toxicity [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2 (2): 154-166.
- [13] TRAN E, TURCOTTE S, GROS A, et al. Cancer immunotherapy based on mutation specific CD4+ T cells in a patient with epithelial cancer [J]. *Science*, 2014, 344 (6184):641-645.
- [14] JUNE CH, BLAZAR BR, RILEY JL. Engineering lymphocyte subsets: tools, trials and tribulations [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9 (10):704-716.
- [15] D'ALOIA MM, ZIZZARI IG, SACCHETTI B, et al. CAR-T cells: the long and winding road to solid tumors [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9 (3):282.
- [16] PULE MA, SAVOLDO B, MYERS GD, et al. Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma [J]. *Nat Med*, 2008, 14 (11):1264-1270.
- [17] VANSEGGELEN H, TANTALO DG, AFSABI A, et al. Chimeric antigen receptor-engineered T cells as oncolytic virus carriers [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2015, 2: 15014.
- [18] SCHOLLER J, BRADY TL, BINDER-SCHOLL G, et al. Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4 (132): 132ra53.
- [19] ROSENBERG SA, AEBERSOLD P, CORNETTA K, et al. Gene transfer into humans-immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction [J]. *N Engl J Med*, 1990, 323 (9): 570-578.
- [20] ZHAO Y, MOON E, CARPENITO C, et al. Multiple injections of electroporated autologous T cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor [J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (22): 9053-9061.
- [21] SINGH H, MANURI P R, OLIVARES S, et al. Redirecting Specificity of T-Cell Populations For CD19 Using the Sleeping Beauty System [J]. *Cancer Res*, 2008, 68 (8):2961-2971.
- [22] SINGH H, FIGLIOLA MJ, DAWSON MJ, et al. Manufacture of



- clinical-grade CD 19-specific T cells stably expressing chimeric antigen receptor using sleeping beauty system and artificial antigen presenting cells[J]. *Plos One*, 2013, 8(5): e64138.
- [23] NAKAZAWA Y, SAHA S, GALVAN DL, et al. Evaluation of long-term transgene expression in piggy Bac-modified human T lymphocytes[J]. *J Immunother*, 2013, 36(1): 3-10.
- [24] FIELD AC, QASIM W. Engineered T cell therapies[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2015, 17: e19.
- [25] WU CY, ROYBAL KT, PUCHNER EM, et al. Remote control of therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric receptor[J]. *Science*, 2015, 350(6258): aab4077.
- [26] SOMMERMEYER D, HUDECEK M, KOSASIH PL, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8⁺ and CD4⁺ subsets confer superior antitumor reactivity *in vivo* [J]. *Leukemia*, 2016, 30(2): 492-500.
- [27] BARRETT DM, GRUPP SA, JUNE CH. Chimeric antigen receptor- and TCR-modified T cells enter main street and wall street [J]. *J Immunol*, 2015, 195(3): 755-761.
- [28] YANG Y, JACOBY E, FRY TJ. Challenges and opportunities of allogeneic donor-derived CAR T cells [J]. *Curr Opin Hematol*, 2015, 22(6): 509-515.
- [29] CHU J, DENG Y, BENSON DM, et al. CS1-specific chimeric antigen receptor (CAR)-engineered natural killer cells enhance *in vitro* and *in vivo* antitumor activity against human multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2014, 28(4): 917-927.
- [30] PORTER DL, LEVINE BL, KALOS M, et al. Chimeric antigen receptor modified T cells in chronic lymphoid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(8): 725-733.
- [31] DAVILA ML, RIVIERE I, WANG X, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(224): 224ra25.
- [32] SCHUSTER SJ, SVOBODA J, NASTA S D, et al. Phase IIa trial of chimeric antigen receptor modified T cells directed against CD19 (CTL019) in patients with relapsed or refractory CD19⁺ lymphomas [C]. San Francisco: Meeting of the American-Society-of-Hematology, 2014.
- [33] BRENTJENS RJ, RIVIERE I, PARK JH, et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias [J]. *Blood*, 2011, 118(18): 4817-4828.
- [34] KALOS M, LEVINE BL, PORTER DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(95): 95ra73.
- [35] TILL BG, JENSEN MC, WANG J, et al. CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results [J]. *Blood*, 2012, 119(17): 3940-3950.
- [36] STROMNES IM, SCHMITT TM, HULBERT A, et al. T cells engineered against a native antigen can surmount immunologic and physical barriers to treat pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(5): 638-652.
- [37] BEATTY GL, HAAS AR, MAUS MV, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce antitumor activity in solid malignancies [J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(2): 112-120.
- [38] AHMED N, BRAWLEY VS, HEGDE M, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of Her2-positive sarcoma [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(15): 1688-1696.
- [39] MORGAN RA, YANG JC, KITANO M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2 [J]. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 843-851.
- [40] MAUS MV, GRUPP SA, PORTER D, et al. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies [J]. *Blood*, 2014, 123(17): 2625-2635.
- [41] JUNE CH. Toward synthetic biology with engineered T cells: a long journey just begun [J]. *Hum Gene Ther*, 2014, 25(9): 779-784.
- [42] JUNE CH, LEVINE BL. T cell engineering as therapy for cancer and HIV: our synthetic future [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015, 370(1680): 20140374.
- [43] POIROT L, PHILIP B, SCHIFFER-MANNIOU C, et al. Multiplex genome-edited t-cell manufacturing platform for "off-the-shelf" adoptive T-cell immunotherapies [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(18): 3853-3864.
- [44] VAETH M, BÄUERLEIN CA, PUSCH T, et al. Selective NFAT targeting in T cells ameliorates GvHD while maintaining antitumor activity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(4): 1125-1130.
- [45] GREUBER EK, SMITH-PEARSON P, WANG J, et al. Role of ABL family kinases in cancer: from leukaemia to solid tumours [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(8): 559-571.
- [46] KOBAYASHI K, MIYAGAWA N, MITSUI K, et al. TKI dasatinib monotherapy for a patient with Ph-like ALL bearing ATF7IP-PDGFRB translocation [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2015, 62(6): 1058-1060.
- [47] BEARD RE, ZHENG Z, LAGISETTY KH, et al. Multiple chimeric antigen receptors successfully target chondroitin sulfate proteoglycan 4 in several different cancer histologies and cancer stem cells [J]. *J Immunother Cancer*, 2014, 2: 25.
- [48] THEMELI M, KLOSS CC, CIRIELLO G, et al. Generation of tumor-targeted human T lymphocytes from induced pluripotent stem cells for cancer therapy [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(10): 928-933.
- [49] NEELAPU SS, TUMMALA S, KEBRIAEI P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy — assessment and management of toxicities [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 47-62.

(编辑:罗娟)



【编者按】 2020年2月5日,《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案》(试行第五版)印发,方案强调要在新型冠状病毒感染患者的医疗救治工作中积极发挥中医药作用,加强中西医结合,建立中西医联合会诊制度,促进医疗救治取得良好效果。纵观历史,中医药曾在数次重大疫病防治中发挥了不可或缺的作用。在2003年非典流行期间,中医药的介入也取得了显著的治疗效果。为详细阐述中医药在疫病防治中的作用,《中国合理用药探索》杂志于2020年2月开设一期“疫病辨治”专栏,特约专家文章《中医药辨治疫病的历史回顾与现代启示》和《中医在瘟疫防治中的作用》,以飨读者。

中医药辨治疫病的历史回顾与现代启示

陈仁寿

(南京中医药大学中医药文献研究所,南京 210023)

【摘要】 中医药辨治疫病具有悠久的历史。古代疫病的名称较为复杂,又称疠病、天行、时行。伤寒与温病中包括疫病的内容,疫病有寒疫、温疫与杂疫之分。疫病成因有多种学说,如非时说、运气说、乖戾说、六淫说、邪毒说、正虚说。据此形成了不同的治疗方法,如调治寒热、表里双解、扶正祛邪、清解热毒、分期而治。在预防措施上,古代中医亦是采用了多种方法。

【关键词】 中医药;疫病;历史回顾;新冠肺炎

【中图分类号】 R21 【文献标志码】 A 【文章编号】 2096-3327(2020)02-0008-06

DOI 10.3969/j.issn.2096-3327.2020.2.002

Historical Review and Modern Enlightenment of Traditional Chinese Medicine Treatment in Epidemic Diseases (Yi-Diseases)

CHEN Ren-shou

(Institute of literature in Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

【Abstract】 Traditional Chinese medicine (TCM) has a long history in the differentiation and treatment of epidemic diseases (Yi-Diseases). The names of ancient epidemic diseases are complex, also known as Plague, Tianxing or Shixing. Cold pathogenic diseases and warm pathogenic diseases in Chinese medicine include the epidemic diseases, which are divided into Han-yi (cold pestilence), Wen-yi (warm pestilence) and Za-yi (other pestilences). There are many theories about the cause of epidemic diseases, such as the theory of Fei-shi (Qi functions at the wrong time), the theory of Yun-qi (lucky or chance), the theory of Guai-li (theory about special pathogenic organism), the theory of six climatic exopathogens, the theory of pathogenic toxin and the theory of qi deficiency. According to the above theories, different treatments and methods have been formed, such as regulating cold and heat, expelling pathogens from both exterior and interior of human body, strengthening vital qi to eliminate pathogenic factors, clearing away heat toxin and treating by stages. As for preventive measures, ancient Chinese medicine also has adopted a variety of methods.

【Key words】 traditional Chinese medicine; epidemic diseases; historical review; Corona Virus Disease 2019 (COVID-19)

【收稿日期】 2020-02-13

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(81574099)

【作者简介】 陈仁寿,男,研究员,博士生导师,研究方向:中医药文献与流派研究。联系电话:(025)85811756 E-mail: njcrs@126.com。

《说文解字》曰:“疫,民皆疾也。”说明很早“疫”就是指很多人同时发病的一种疾病,延伸至今成为传播性很强的一类疾病(即急性传染性疾病的统称),故在描述急性传染病流行的现象时我们仍