

# 卵巢癌中过继性细胞免疫治疗研究进展

黄筱雨,洪莉\*

作者单位:430060 湖北 武汉,武汉大学人民医院妇产科  
作者简介:黄筱雨,武汉大学硕士研究生在读。洪莉,教授,主任医师,博士研究生导师,主要从事盆底功能障碍性疾病及妇科肿瘤基础方面的研究

\* 通信作者,E-mail:dr\_hongli@whu.edu.cn;1072247562@qq.com

【关键词】 卵巢癌;过继性细胞免疫治疗;肿瘤免疫;嵌合抗原受体;T细胞受体改造的T细胞  
【中图分类号】R 737.31      【文献标志码】A      【文章编号】1674-4020(2021)06-024-04  
doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2021.06.06

卵巢癌是女性生殖系统恶性肿瘤中死亡率最高的类型,其发生率在我国仅次于子宫颈癌和子宫体癌。统计显示卵巢癌的新发数和死亡数约占全部类型的1.6%和1.9%(2018年),5年生存率仅为47%(2015年)。卵巢癌首选手术和辅助化疗,但大多数晚期患者最终复发。卵巢癌具免疫原性,免疫系统在其发生发展中起重要作用。免疫治疗克服肿瘤异质性,打破免疫抑制和耐受状态,加强识别和杀伤能力。在免疫治疗策略中过继性细胞免疫治疗(adoptive cell immunotherapy,ACT)被认为是最有前途的方法之一。

ACT是将自身或者同种异体免疫效应细胞体外扩增和/或激活再输注。以是否依赖人白细胞抗原(human leukocyte antigen,HLA)作用将ACT分为两类:一类依赖HLA通过特异性T细胞受体(T cell receptor,TCR)识别肿瘤相关抗原(tumor associated antigens,TAA);另一类则不依赖HLA(详见表1)。前者包括肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte,TIL)以及T细胞受体改造的T细胞(T cell receptor engineered T cells,TCR-T),后者则包括天然免疫系统中不依赖HLA的免疫效应细

胞如自然杀伤细胞(natural killer cell,NK),淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer,LAK)和细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer cells,CIK)及嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor,CAR)。CAR直接以单链抗体(single chain antibody fragment,scFv)进行识别,因此为非HLA依赖。多年来基于TLC、NK、LAK、CIK的卵巢癌治疗已有大量研究,而TCR-T和CAR以基因工程为基础,研究门槛高,相关领域有待进一步探索。近年来CAR研究不断推陈出新,在卵巢癌治疗方面具有巨大潜力。

以下就不同类型ACT的特点及研究进展做一概述,为将来ACT治疗卵巢肿瘤方面的研究及应用提供依据。

## 1 非人白细胞抗原依赖的过继性细胞免疫治疗

### 1.1 自然杀伤细胞

NK细胞是理想的ACT免疫因子,具有强抗瘤力,细胞亚群少,体内存活短,通过应激诱导配体直接识别靶细胞。研究表明NK细胞毒性和肿瘤内浸润数量与患癌风险和预后显著相关。

表1 ACT分类及特点

种类	组成	优势	缺点
非HLA依赖的ACT	NK	①不受MHC分子下调(免疫逃避)影响	①体内作用时间不长
	LAK	②不受卵巢癌组织分型影响	②仅靶向胞外
	CIK	③易于体外扩增	
	CAR	④CAR突破自身抗原耐受性	
依赖HLA的ACT	TILs	①在体内发挥作用的时限长	①卵巢癌TAA多变且与组织学类型相关
	TCR	②TILs同时靶向胞内外信号	②有些卵巢癌中TILs体外扩增数量不足

注:MHC:主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex)。

NK-ACT 研究重在提高数量、活性和靶向性。常用提高活性方法包括细胞因子共培养,改变来源及通过改造增强活性等。细胞因子共培养简单易行,大量研究支持,但方案需进一步探讨。一种与白介素(interleukin, IL)12、15 及 18 短暂预激活的细胞因子诱导的有记忆性的 NK 细胞能增强干扰素(interferon, IFN) $\gamma$  释放、提高对卵巢癌的杀伤活性并表现出潜在性规避肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的能力<sup>[1]</sup>。IL-15 超激动剂复合体甚至增强腹水来源 NK 活性。抗表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)预处理可提高肿瘤细胞对 NK 细胞介导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)的敏感性,但同时降低分泌细胞因子能力<sup>[2]</sup>。NK 细胞的来源多样,如干细胞、外周血。改变来源可获得更高活性 NK,例如“非成体”人多能干细胞来源及在体内和体外均有强抗癌能力的造血干细胞及祖细胞来源的 NK。或许从患者来源扩增筛选更为直接,但如何适应临床应用有待研究。基因改造方面,三抗体形式的双特异性抗体[人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 2x 分化群(cluster of differentiation, CD) 16]可增强抗肿瘤活性<sup>[3]</sup>; SESN (sestrins)2 和 SESN 3 上调抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体(mammalian target of rapamycin complex, mTORC)1 信号,促进一磷酸腺苷激活的蛋白激酶[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK]信号传导进而影响体内外 NK-92 细胞杀伤活性<sup>[4]</sup>。NK 细胞与其他免疫细胞[如 NK 的树突状细胞(dendritic cell, DC)]的编辑功能或者与其他 ACT (如 CAR-NK)联用也增强抗癌活性。目前 NK-ACT 临床应用的瓶颈在于体外扩增技术,关键在于其安全性、短耗时、低成本和高效率。

## 1.2 细胞因子诱导的杀伤细胞

CIK 细胞来源外周血,受 CD3 抗体、IFN- $\gamma$  和 IL-2 刺激产生,特征性表达 CD3 和 CD56,与贝伐珠单抗相比,对耐药型卵巢癌细胞毒性更强。一项细胞实验发现 CIK 治疗使上清中肿瘤标记物(tumor marker, TM)如糖类抗原(carbohydrate antigen, CA) 125、人附睾蛋白(human epididymis protein, HE)4 降低,可考虑作为疗效监测指标之一。基于 CIK 的研究集中于提高杀伤性。一体外实验通过 shRNA 干扰发现球状癌干细胞样细胞也能通过低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)介导的细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)下调抵抗 CIK 介导的细胞裂解<sup>[5]</sup>,结合在贴壁细胞中得到同样的结论,未来研究考虑通过干预此通路提高 CIK 抗癌毒性。CIK 联合其他 ACT 提高抗癌性。叶酸受体 $\alpha$ (folate receptor  $\alpha$ , FR $\alpha$ )-CAR 改造 CIK 细胞或者卵巢癌患者月经血来源

的 DC-CIK 细胞增强细胞毒性,同时 DC-CIK 免疫治疗促进 CD4<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>、Treg 升高,改善 T 细胞功能及亚群比例失衡,且免疫因子增殖率、成熟数量、抗癌力、安全性和可行性均有提高。临床试验中发现 CIK 联合化疗和/或其他免疫细胞疗效较好,显著降低血清 TM,改善凝血。易获取及低成本的来源是临床应用、推广的关键。体外实验证明脐血来源 CIK 细胞具抗肿瘤活性,临床试验中发现输注脐带血(umbilical cord blood, UCB)-CIK 的卵巢癌患者得到部分缓解<sup>[6]</sup>。

## 1.3 淋巴因子激活的杀伤细胞

LAK 在卵巢癌治疗方面的研究近年来非常有限。大量临床试验报道高剂量 IL-2 处理的自体 LAK 移植临床反应有限,而以腹膜纤维化率为代表的不良反应发生率较高<sup>[7]</sup>。

## 1.4 嵌合抗原受体

CAR 兼具抗原特异性和细胞活化特性,其胞外结构主要是 scFv,胞内信号域是其分类依据。第 4 代 CAR 通过编辑入细胞因子基因释放招募第二波免疫细胞对缺少 CAR 靶标的细胞发起攻击。如分泌 IL-18 的 CAR-T 不仅扩增性和持久性增强,还可调节 TME<sup>[8]</sup>。CAR 经典载体为 T 细胞,其他载体可能不良反应更低、疗效更佳,如在细胞实验和动物实验中发现 CAR-NK 不诱导 CRS、不易脱靶、毒性低而且来源广<sup>[9]</sup>。CAR 靶点在提高疗效中起重要作用,许多已进入临床试验阶段<sup>[9-13]</sup>。尿激酶纤溶酶原激活物表面受体(urokinase plasminogen activator surface receptor, U-PAR)可在非肿瘤性间质细胞表达使靶向间质细胞成为可能,同时另一研究构建基于天然配体受体结合的抗 uPAR-CAR,成功降低免疫原性<sup>[14]</sup>。放化疗在抑制 T 细胞的同时也使更多靶点暴露,如协同紫杉醇与 HER2-CAR-T 治疗。除了表面分子标记,还可开发其他靶点。TME 严重影响 CAR 疗效,是实体瘤治疗中难以避免的障碍,但同时提供新靶点;肿瘤外泌体具免疫抑制作用,在卵巢癌的发生发展过程起到重要作用,也可纳入治疗靶点的考虑之中<sup>[15-17]</sup>。靶标的正确选择可规避不良反应,利用双抗原特异性/可切换双受体或者 mRNA 编码降低半衰期可降低对正常组织的毒性,设计亲和调节的 scFv 和单次低剂量的单抗预处理也被认为是潜在策略。CAR 制备低成本、高效率及安全性的实现关键在载体细胞来源和制备途径。有研究提出有望大规模生产的诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPS cells)-CAR-T 以及具有强抗癌能力的 NK-CAR-iPSC-NK 细胞作为载体来源。制备途径方面提出了设计简单、使用方便、成本低廉、“非肿瘤”毒性较小的基于 RNA 的 CAR,但大规模转染时效率较低。CAR 治疗策略中联合治疗常被提及。IL-2 短期共培养产生利于治疗的记忆 CAR-T 细胞<sup>[18]</sup>; IL-7 和 IL-15 可促进 CAR-T 的体外扩增;一项体内实验发现抑制 IL-10 可逆转 TME 的负面影响,从而提高 CAR-T 的存活

率及抗癌能力<sup>[18-19]</sup>。此外,多项动物实验发现局部注射比静脉注射更具潜力且可有效改善 TME。

## 2 人白细胞抗原依赖的过继性细胞免疫治疗

### 2.1 特异性 T 细胞受体/肿瘤浸润淋巴细胞

TIC/TIL 系由肿瘤 T 细胞分离扩增一反应性 CD3<sup>+</sup> 亚群,通过分泌 IFN $\gamma$  和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) $\alpha$  抑制体外肿瘤。TIL 分离结果与患者结局间存在相关性。1 项临床试验对转移性卵巢癌患者进行 TIL 联合 IL-2 治疗,证明其可行性和耐受性,但 TIL 作用不完全,研究考虑与抑制性免疫检查点通路即淋巴细胞激活基因 3 (lymphocyte-activation gene 3, LAG3)/MHCII 和细胞程序性死亡蛋白 1 (programmed cell death protein 1, PDI)/细胞程序性死亡配体 1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 有关<sup>[20]</sup>。TIL 研究存在不良反应、难以标准化分离及难以扩展跨癌症模型以及其识别、杀伤机制尚不明确等障碍。

### 2.2 特异性 T 细胞受体

TCR 由对患者 T 细胞受体链进行基因工程设计得到,同 CAR-T 一样由于识别正常组织中靶点导致“在靶离瘤”毒性及低亲和力导致“离靶离瘤”毒性,故实体瘤治疗中获益有限。近年来研究尝试通过开发靶点、改善受体亲和性、设计合适转染载体及改善 TME 等途径来解决。

目前 TCR 靶标可分为癌-睾丸抗原、致癌性病毒抗原和新抗原。新抗原系由非同义突变、标签基因突变或基因融合产生,可触发 CD8<sup>+</sup> T 细胞反应,目前已开发可增强并快速识别新抗原的 TCRs 及高效生产的方法,其有效性也已验证。同时新抗原 TCRs 的优化和诱导简化研究都强调新表位选择对避免交叉反应的重要性。克服表面抗原的靶向局限性还可考虑正常组织中缺乏表达的胞内靶标。增强 TCRs 亲和力可增强 T 细胞特异性和功能性,但高亲和性受体数量少、难识别,可尝试改造互补决定区改变亲和力和亲密度<sup>[21]</sup>。然而 TCRs 具超过敏性亲和力阈值,而且高亲和力易导致不良反应,存在自反应性。通过肿瘤内注射提高 T 细胞局部浓度、加入抑制性分子区分出肿瘤细胞及 T 细胞诱导自杀开关可能解决以上问题<sup>[22]</sup>。此外,一种天然高亲和力 HLA-A\*02:01 (a\*02)-限制性 TCR 可有效靶向纽约食管鳞状细胞癌 1 (New York esophageal squamous cell carcinoma 1, NY-ESO-1) 细胞系且无交叉反应发生,同时另一研究发现 HLA-A\*02:01-TCR 转导的 CATs 具相似特性<sup>[23]</sup>。构建 TCR 时内源性  $\alpha$  和  $\beta$  亚基错配不仅降低其靶向性,还产生新抗原特异性反应。适当的载体设计可减少误配,如利用基因编辑技术消除竞争性内源 TCR 和干扰 PD-1 基因<sup>[24]</sup>。TME 阻碍 T 细胞浸润,可通过 TCR-T 表达针对肿瘤的细胞因子并结合逆转抑制信号的信号开关来解决,或者通过人工 T 细胞活化适配分子调节 TCR-T 信号通路,提高其在 TEM 中的持久性<sup>[22,25]</sup>。

## 3 过继性细胞免疫治疗研究热点

目前提高 ACT 安全性和有效性的可行策略包括靶点开发、效应细胞基因改造及改善临床治疗策略。靶点是提高 ACT 靶向性关键,准确靶向对避免“在靶离瘤”、“离靶离瘤”毒性及提高疗效具有重要意义。而以基因改造为基础的 CAR 和 TCR-T 愈受青睐,主要由于基因修饰的角度和方法选择范围广<sup>[24,26]</sup>;也可以基因修饰的造血干细胞作为来源或者编辑自杀基因开关提高安全性<sup>[27-28]</sup>;基因修饰效应细胞还可拓展到 NK 细胞、iNKT 细胞、GD 型 T 细胞、iPS 细胞等。其中 CAR-NK 细胞亚群少、生存期短故体外风险低,但有效性及毒副作用有待验证<sup>[27]</sup>。TME 降低 ACT 效应物激活能力和生存时间,是 ACT 临床应用中不可避免的障碍。对卵巢癌 TME 的研究不仅能提供更多靶点,还帮助探寻更优治疗策略及开发早期卵巢癌检测标志物。ACT 的联合治疗提高疗效,避免不良反应,改善预后,应用潜力巨大,但临床试验有限,缺乏有力结论。

未来 ACT 研究不仅应关注基础研究,更应关注临床试验及推广应用中的具体问题:如何避免 TME 干扰,如何保证免疫效益因子大规模生产的高效性及安全性,如何实现效应因子的制备既满足个性化同时降低成本等。

## 【参考文献】

- [1] Uppendahl L D, Felices M, Bendzick L, et al. Cytokine-induced memory-like natural killer cells have enhanced function, proliferation, and in vivo expansion against ovarian cancer cells [J]. *Gynecologic Oncology*, 2019, 153 (1): 149-157.
- [2] Zheng X, Qian Y, Fu B, et al. Mitochondrial fragmentation limits NK cell-based tumor immunosurveillance [J]. *Nature Immunology*, 2019, 20 (12): 1656-1667.
- [3] Oberg H H, Kellner C, Gonnermann D, et al. Tribody [ (HER2) (2) xCD16] is more effective than trastuzumab in enhancing  $\gamma\delta$  T cell and natural killer cell cytotoxicity against HER2-Expressing cancer cells [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 814.
- [4] Wang X, Liu W, Zhuang D, et al. Sestrin2 and sestrin3 suppress NK-92 cell-mediated cytotoxic activity on ovarian cancer cells through AMPK and mTORC1 signaling [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (52): 90132-90143.
- [5] Bu S, Li B, Wang Q, et al. Epithelial ovarian cancer stemlike cells are resistant to the cellular lysis of cytokine induced killer cells via HIF1A mediated downregulation of ICAMI [J]. *International Journal of Oncology*, 2019, 55 (1): 179-190.
- [6] Zhang Z, Wang L, Luo Z, et al. Efficacy and safety of cord blood-derived cytokine-induced killer cells in treatment of patients with malignancies [J]. *Cytotherapy*, 2015, 17 (8): 1130-1138.
- [7] Pedersen M, Westergaard M C, Milne K, et al. Adoptive cell therapy with tumor-infiltrating lymphocytes in patients with metastatic ovarian cancer: a pilot study [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7 (12): e1502905.
- [8] Avanzi M P, Yeku O, Li Xinghuo, et al. Engineered tumor-targeted T cells mediate enhanced anti-tumor efficacy both directly and through

- activation of the endogenous immune system [J]. Cell Reports, 2018, 23(7):2130-2141.
- [9] Klapdor R, WANG S, Morgan M, et al. Characterization of a novel third-generation anti-CD24-CAR against ovarian cancer [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(3):660.
- [10] Du H, Hirabayashi K, Ahn S, et al. Antitumor responses in the absence of toxicity in solid tumors by targeting B7-H3 via chimeric antigen receptor T cells [J]. Cancer Cell, 2019, 35(2):221-237. e8.
- [11] Smith J B, Lanitis E, Dangaj D, et al. Tumor regression and delayed onset toxicity following B7-H4 CAR T cell therapy [J]. Molecular Therapy, 2016, 24(11):1987-1999.
- [12] Murad J P, Kozłowska A K, Lee H J, et al. Effective targeting of TAG72(+) peritoneal ovarian tumors via regional delivery of CAR-engineered T cells [J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9:2268.
- [13] Owens G L, Sheard V E, Kalaitidou M, et al. Preclinical assessment of CAR T-Cell therapy targeting the tumor antigen 5T4 in ovarian cancer [J]. Journal of Immunotherapy (Hagerstown, Md.:1997), 2018, 41(3):130-140.
- [14] Wang L, Yang R, Zhao L, et al. Basing on uPAR-binding fragment to design chimeric antigen receptors triggers antitumor efficacy against uPAR expressing ovarian cancer cells [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie, 2019, 117:109173.
- [15] Ghisoni E, Imbimbo M, Zimmermann S, et al. Ovarian cancer immunotherapy; turning up the heat [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(12):2927.
- [16] De Nola-r, Menga A, Castegna A, et al. The crowded crosstalk between cancer cells and stromal microenvironment in gynecological malignancies; biological pathways and therapeutic implication [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(10):2401.
- [17] Shenoy G N, Loyall J, Maguire O, et al. Exosomes associated with human ovarian tumors harbor a reversible checkpoint of t-cell responses [J]. Cancer Immunology Research, 2018, 6(2):236-247.
- [18] Zhang X, Lv X, Song Y. Short-term culture with IL-2 is beneficial for potent memory chimeric antigen receptor T cell production [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 495(2):1833-1838.
- [19] Xu X-j, Song D-g, Poussin M, et al. Multiparameter comparative analysis reveals differential impacts of various cytokines on CART cell phenotype and function ex vivo and in vivo [J]. Oncotarget, 2016, 7(50):82354-82368.
- [20] Gerber H P, LV Si ben-er, Lee L J, et al. Intracellular targets as source for cleaner targets for the treatment of solid tumors [J]. Biochemical Pharmacology, 2019, 168:275-284.
- [21] Zhang J, Wang L. The emerging world of TCR-T cell trials against cancer: a systematic review [J]. Technology in Cancer Research & Treatment, 2019, 18:1533033819831068.
- [22] Kang S, Li Y, Bao Y, et al. High-affinity T cell receptors redirect cytokine-activated T cells (CAT) to kill cancer cells [J]. Frontiers of Medicine, 2019, 13(1):69-82.
- [23] Gao Q, Dong X, Xu Q, et al. Therapeutic potential of CRISPR/Cas9 gene editing in engineered T-cell therapy [J]. Cancer Medicine, 2019, 8(9):4254-4264.
- [24] Miyao K, Terakura S, Okuno S, et al. Introduction of genetically modified CD3 $\zeta$  improves proliferation and persistence of Antigen-Specific CTLs [J]. Cancer Immunology Research, 2018, 6(6):733-744.
- [25] Ren Jiangtao, Liu Xiaojun, Fang Chongyun, et al. Multiplex genome editing to generate Universal CAR T cells resistant to PD1 inhibition [J]. Clinical Cancer Research, 2017, 23(9):2255-2266.
- [26] Minagawa K, Jamil M, Al-Obaidi M, et al. Correction; in vitro pre-clinical validation of suicide gene modified Anti-CD33 redirected chimeric antigen receptor T-Cells for acute myeloid leukemia [J]. PLOS One, 2017, 12(2):e0172640.
- [27] Kasakovski D, xu L, li Y. T cell senescence and CAR-T cell exhaustion in hematological malignancies [J]. Journal of Hematology & Oncology, 2018, 11(1):91.
- [28] Kim H M, KANG J-s, Lim J, et al. Inhibition of human ovarian tumor growth by cytokine-induced killer cells [J]. Archives of Pharmacal Research, 2007, 30(11):1464-1470.

(收稿日期:2020-07-20 编辑:向晓莉)

## 书 讯

**本刊讯** 由本刊学术顾问石一复教授和常务编委郝敏教授主编,本刊编委朱依敏、李娟清、陈丹青、王惠兰任副主编及本刊多位编委参编的《妇产科症状鉴别诊断学》一书已由人民卫生出版社于2021年5月出版。本书对妇产科各级医师的“三基”、综合分析、全面思考、纵向和横向联系、知识面扩展等均有参考价值,有利临床上正确诊断和处。也是妇产科学入门和临床教学的参考和工具书之一,也可为有经验的医师在日常医疗、教学或凡接触妇产科病情有关问题和“传、帮、带”中提供参考,对提高医术、教学质量均有裨益。