

胰腺癌CAR-T免疫治疗研究进展

涂东, 于杰, 蔡文科, 罗小迪, 高阳, 陈瑜, 余冰玉, 罗国军*

解放军联勤保障部队第920医院心胸外科, 昆明 650032

[中图分类号] R735.9

[文献标志码] A

[DOI]

10.11855/j.issn.0577-7402.2022.04.0419

[声明]

本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文]

涂东, 于杰, 蔡文科, 等. 胰腺癌CAR-T免疫治疗研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2022, 47(4): 0419-0426.

[收稿日期] 2021-04-09

[录用日期] 2021-05-26

[上线日期] 2021-10-18

[摘要] 胰腺癌是一种恶性程度高、预后差的消化系统恶性肿瘤, 因其超高的致死率被称为“癌中之王”, 2020年死亡病例占新发病例的90%以上, 目前仍缺乏较好的治疗手段。嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)免疫疗法已在血液系统恶性肿瘤的治疗中取得成功, 总体缓解率达到80%以上, 目前共有5项CAR-T产品经美国FDA批准上市, 标志着人类抗癌之路进入了新时代。近年来, 许多学者应用CAR-T治疗胰腺癌并取得了不错的进展。本文总结了CAR-T在胰腺癌治疗中的研究进展, 包括CAR-T靶点选择、现有的早期临床研究、安全性评估、存在的问题和挑战等, 旨在为胰腺癌的免疫治疗提供新思路。

[关键词] 胰腺癌; 嵌合抗原受体T细胞免疫疗法; 靶点选择; 安全性

Research progress of chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy in the treatment of pancreatic cancer

Tu Dong, Yu Jie, Cai Wen-Ke, Luo Xiao-Di, Gao Yang, Chen Yu, Yu Bing-Yu, Luo Guo-Jun*

Department of Cardiothoracic Surgery, the 920th Hospital of Joint Logistics Support Force, Kunming 650032, China

*Corresponding author, E-mail: Guojun2020L@163.com

[Abstract] Pancreatic cancer is one of the malignant tumors of digestive system with high malignancy and poor prognosis, so is called the "king of cancer" since resulting in an extremely high mortality rate. The death cases account for more than 90% of new cases in 2020, and there is still a lack of better treatments for pancreatic cancer. Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) immunotherapy has achieved great success in hematological malignancies, with an overall remission rate reached more than 80%. At present, five CAR-T products have been approved by the US FDA for listing, which marks a new era of anti-cancer road. In recent years, many scientists have focused their attention on CAR-T therapy to treatment of pancreatic cancer and have made good progress. The recent progress was summarized in present article of CAR-T therapy in treatment of pancreatic cancer including the selection of CAR-T targets, existed early clinical research, safety assessment, existed problems and challenges, etc., aiming to provide new ideas for pancreatic cancer immunotherapy.

[Key words] pancreatic cancer; chimeric antigen receptor T cell immunotherapy; targets selection; safety

胰腺癌是一种高侵袭性、高致命性的恶性肿瘤^[1], 全球癌症统计数据显示, 2020年胰腺癌新发病例495 773例, 死亡466 003例, 死亡病例占新发病例的90%以上, 在全球癌症死亡原因中居第8位^[2], 在中国居第6位^[3], 在美国居第3位^[4], 预计

2030年在美国将升至第2位^[5]。目前胰腺癌仍缺乏较好的检测和治疗手段, 超过90%的胰腺癌患者确诊时已是晚期并发生转移, 生存期不超过1年, 5年生存率仅7%^[6]; 其主要治疗手段仍是手术切除结合辅助疗法^[7], 但仅20%的患者适合手术, 且术

[作者简介] 涂东, 副主任医师, 主要从事肿瘤系统性诊疗的相关研究

[通信作者] 罗国军, E-mail: Guojun2020L@163.com

后80%的患者出现复发并最终死亡^[8]。嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)免疫疗法是一种过继T细胞疗法,首先从患者血液中分离T细胞,然后通过基因工程手段使T细胞可以识别肿瘤细胞上的抗原并杀死肿瘤细胞,被认为是一种安全可靠的免疫疗法。目前CAR-T疗法已在血液系统肿瘤治疗中取得巨大成功,靶向CD19的CAR-T对耐药性B细胞恶性肿瘤展示出持久的缓解效果^[9-11],对于复发和难治的急性B淋巴细胞白血病患者治愈率达80%~90%^[12];目前已有4项靶向CD19、1项靶向B细胞成熟抗原(B cell maturation antigen, BCMA)的CAR-T产品被美国FDA批准上市,分别用于治疗B细胞型急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)^[13]和复发或难治性多发性骨髓瘤,这标志着肿瘤免疫治疗进入了新时代。CAR-T疗法在血液系统肿瘤治疗中的成功也为实体瘤的治疗带来了希望,目前已发现一系列实体瘤CAR-T细胞靶抗原,并用于早期临床试验^[14],如间皮素(mesothelin, MSLN)^[15-16]、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGFR)或表皮生长因子突变体Ⅲ(epidermal growth factor receptor variant Ⅲ, EGFRvⅢ)^[17-18]、上皮细胞黏附因子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)、人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)^[19]、黏蛋白1(Mucin 1, MUC1)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)^[20]、前列腺特异性膜抗原(prostate-specific membrane antigen, PSMA)^[21]等。胰腺癌CAR-T疗法已有较多研究报道,目前已发现多个抗原靶点,如MUC1、MSLN、HER2(ERBB2)、CEA(CEACAM5)、CD133(PROM1)、前列腺干细胞抗原(prostate stem cell antigen, PSCA)等,并开展了多项临床试验。本文综述了基于上述靶点的胰腺癌CAR-T治疗的最新研究进展,以期为CAR-T用于胰腺癌的临床治疗提供新思路。

1 CAR-T疗法与实体瘤

近10年来CAR-T发展迅速,目前已发展到第4代,包含胞内信号域CD3 ζ 、共刺激域CD28和4-1BB、跨膜结构域、胞外scFv以及细胞因子(添加细胞因子基因,能在CAR-T细胞被活化后高表达,从而增强T细胞的活性)^[22-23]。其中4-1BB属于坏死因子受体超家族(tumor necrosis factor receptor superfamily, TNFRSF),通过激活核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)、c-Jun和p38等信号通路促进CAR-T的体内存活并延长留存时间^[24-25]; CD28通过激活磷酸肌醇-3激酶/蛋白激酶(phosphoinositol 3 kinase-protein kinase B, PI3K/

AKT)、NF- κ B、Fos等信号通路促进T细胞增殖和细胞因子的产生^[26]; CD3 ζ 通过招募Zap-70激活C-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)及Fos等,进而激活T细胞^[27]。CAR-T细胞scFv与肿瘤细胞表面抗原结合后,胞内信号被激活,从而发挥杀伤肿瘤细胞的作用:第一, CAR-T细胞分泌细胞毒性颗粒、穿孔素和颗粒酶,其中穿孔素可在肿瘤细胞表面“打洞”,随后颗粒酶被输送到肿瘤细胞内部,通过物理作用对肿瘤细胞进行杀伤或者诱导肿瘤细胞发生凋亡;第二, CAR-T细胞表面高表达肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)配体,这些配体可以诱导肿瘤细胞凋亡^[28];第三, CAR-T细胞分泌特定的细胞因子,如 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-12(interleukin-12, IL-12)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等^[29-30],这些细胞因子可以增强CAR-T细胞的活性,改变肿瘤微环境,进一步增强其抗肿瘤活性。

在血液系统肿瘤治疗中取得的成功使CAR-T应用于实体瘤的治疗成为可能,但绝不是简单的平移,实体瘤治疗仍面临以下难题:(1)抗原异质性导致难以鉴定肿瘤细胞特异的抗原^[31];(2)T细胞很难浸润到实体瘤内部^[32];(3)肿瘤微环境的免疫抵抗,实体瘤微环境非常复杂,包含各种基质细胞、炎性细胞、脉管系统、细胞外基质等^[33]。尽管采取一些措施,如设计多靶向的CAR分子以增加靶抗原的表达,增强CAR-T细胞的浸润能力和增殖能力,以及改变Tregs介导的免疫抑制作用等可以部分解决上述难题,但实体瘤CAR-T治疗的效果仍不理想。在众多实体瘤中,胰腺癌的肿瘤微环境尤为极端,包括极端低氧、高密度纤维基质、脉管系统少等,因此其CAR-T治疗较其他实体瘤更加困难,未来靶向胰腺癌微环境可能成为突破口。

2 胰腺癌CAR-T治疗靶点的选择

选择理想的靶点是CAR-T治疗的第一步,也是最关键的一步。目前的设计思路是根据胰腺癌分子特征,找到胰腺癌中高表达的膜蛋白,并以这些蛋白作为抗原靶点,通过在体外改造外周血中分离培养的T细胞,使T细胞可以特异性识别这些抗原靶点,从而起到杀死肿瘤细胞的作用。具体思路如图1所示。

目前胰腺癌CAR-T治疗的临床研究使用较多的抗原靶点包括MUC1、MSLN、HER2(ERBB2)、CEA(CEACAM5)、CD133(PROM1)、PSCA等,这些蛋白均在胰腺癌中高表达,且与患者预后明显相关(图2)。

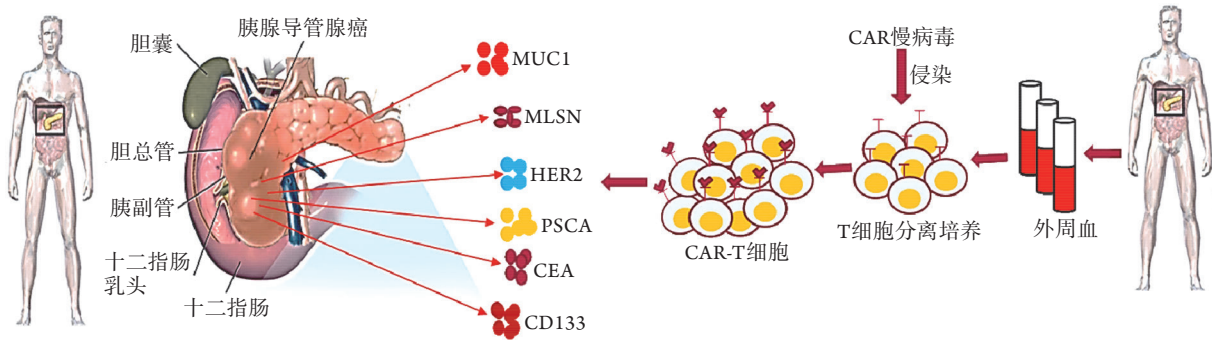


图1 CAR-T细胞体外改造流程及胰腺癌靶点选择

Fig.1 The *in vitro* modification process of CAR-T cells and target selection for pancreatic cancer

图中左侧所示为人胰腺和周围器官、胰腺导管腺癌的位置以及目前已鉴定的抗原靶点(红色箭头), 右侧为CAR-T细胞的获取过程, 包括从人外周血中分离培养T细胞, 然后用慢病毒侵染, 使T细胞表达特异抗原靶点识别蛋白; MUC1. 黏蛋白1; MSLN. 间皮素; HER2. 人表皮生长因子受体2; PSCA. 前列腺干细胞抗原; CEA. 癌胚抗原; CAR-T. 嵌合抗原受体T细胞

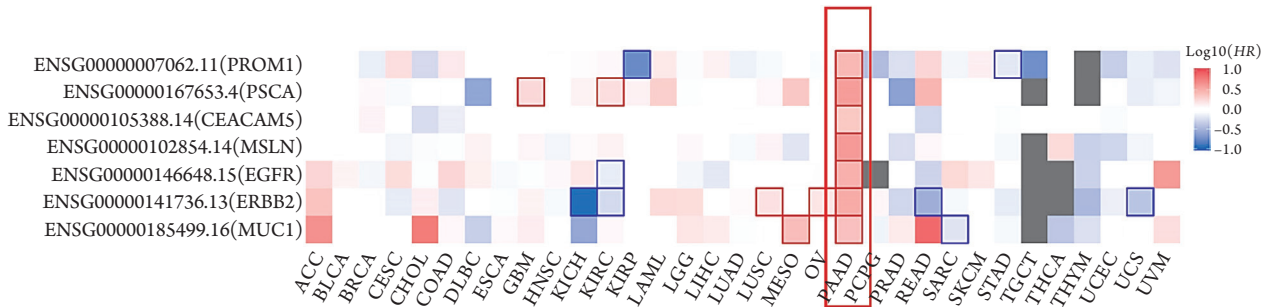


图2 胰腺癌CAR-T抗原靶点蛋白与患者预后的关系

Fig.2 Relationship between the CAR-T antigen target of pancreatic cancer and the prognosis of patients

纵坐标代表目前常用的胰腺癌CAR-T抗原靶点蛋白及其Ensembl ID号; 红框示PAAD即胰腺癌; 颜色越接近红色, 并有红色小框标识, 代表该基因与患者预后相关性越强; ACC. 肾上腺皮质癌; BLCA. 膀胱尿路上皮癌; BRCA. 乳腺浸润癌; CESC. 宫颈鳞状细胞癌; CHOL. 胆管癌; COAD. 结肠腺癌; DLBC. 弥漫性大B细胞淋巴瘤; ESCA. 食管癌; GBM. 多形性胶质母细胞瘤; HNSC. 头颈部鳞状细胞癌; KICH. 肾嫌色细胞癌; KIRC. 肾透明细胞癌; LAML. 急性髓系白血病; LGG. 脑低级别胶质瘤; LIHC. 肝细胞癌; LUAD. 肺腺癌; LUSC. 肺鳞状细胞癌; MESO. 间皮瘤; OV. 卵巢浆液性囊腺癌; PAAD. 胰腺导管腺癌; PCPG. 嗜铬细胞瘤和副神经节瘤; PRAD. 前列腺癌; READ. 直肠癌; SARC. 肉瘤; SKCM. 皮肤黑色素瘤; STAD. 胃癌; TGCT. 睾丸生殖细胞肿瘤; THCA. 甲状腺癌; THYM. 胸腺瘤; UCEC. 子宫内膜癌; UCS. 子宫癌肉瘤; UVM. 葡萄膜黑色素瘤

2.1 MUC1 MUC1是一种表达在细胞膜上的跨膜糖蛋白, 在80%以上的胰腺癌中高表达^[34-35], 在75种潜在的肿瘤抗原中被国家癌症研究所(National Cancer Institute, NCI)列为第二适合免疫治疗的抗原靶点^[36]。通过TCGA数据库分析发现, MUC1高表达的胰腺癌患者预后较差, 可能是胰腺癌CAR-T治疗的理想靶点之一。

Posey等^[37]设计了一种针对糖基化MUC1的CAR-T, 并用人胰腺癌原位移植瘤测试其对胰腺癌的作用, 发现 5×10^5 个CAR-T细胞处理可有效抑制小鼠胰腺癌生长, 113 d后小鼠生存率仍为100%, 而未处理的T细胞和CD19 CAR-T细胞处理的小鼠生存率分别为40%和33%。另有研究发现, 靶向MUC1的CAR-T细胞对Capan-1、Panc-1、Bxpc-3、Miapaca2、人胰腺腺泡上皮癌(human acinar epithelial carcinoma of the pancreas, HPAC)等多种胰腺癌细胞

系均有较好的杀伤作用, 并能明显抑制肿瘤在体内的生长^[38]。上述两项研究结果表明, 靶向MUC1的CAR-T能有效杀死胰腺癌细胞并抑制其体内生长, 提示MUC1可作为胰腺癌治疗的潜在靶标。

2.2 MSLN MSLN是一种在正常组织中表达量很低, 但在间皮瘤、卵巢癌、胰腺癌等多种肿瘤中高表达的细胞表面抗原, 是肿瘤治疗的潜在靶点。目前已有多种针对MSLN的CAR-T被用于治疗实体瘤^[39-41]。MSLN在80%以上的胰腺癌中高表达, 且与患者预后呈负相关, 因此也是胰腺癌潜在的治疗靶点之一。一项I期临床试验对6例胰腺导管腺癌患者给予靶向MSLN的CAR-T治疗, 每周1次, 持续3周, 发现3例肿瘤活性保持稳定, 1例下降69.2%, 2例无进展生存期(PFS)分别延长了3.8个月和5.4个月^[15]。有研究利用转座子系统构建靶向MSLN的CAR-T, 其在体外可以快速杀死胰腺癌细胞系Aspc-1, 并能明显

抑制用Aspc-1细胞构建的裸鼠移植瘤的生长^[42]。有研究发现,靶向MSLN和CEA的双CAR-T具有更强的抗胰腺癌活性^[43]。

2.3 CEA CEA是一种糖蛋白,在75%以上的胰腺癌中高表达^[44]。通过TCGA数据库分析发现,CEA高表达的胰腺癌患者预后更差。一项靶向CEA的临床试验中,53%接受治疗的胰腺癌患者6周后病情保持稳定,但由于4例出现肺毒性而被迫停止。有研究发现,靶向CEA的CAR-T可以消除67%小鼠的移植瘤^[45]。

2.4 HER2 HER2在20%~60%的胰腺癌中高表达,且与患者预后呈负相关。研究发现,基于曲妥单抗设计的二代HER2 CAR-T,可在1周内有效减小胰腺癌移植瘤的体积;结合使用CD24 CAR-T,可使90%的小鼠14周后仍存活^[46]。另一项研究发现,接受HER2 CAR-T治疗后,患者15 min内出现呼吸窘迫等严重不良反应^[47]。因此,HER2 CAR-T的应用有待进一步研究。

2.5 PSCA PSCA在60%~80%的胰腺癌中表达^[48-49],且严重影响患者的生存,但在正常组织中表达量很低,因此也是胰腺癌免疫治疗的理想靶点之一。Abate-Daga等^[50]和Katari等^[51]的研究证实,靶向PSCA的CAR-T具有较好的抗胰腺癌活性,为PSCA作为胰腺癌的免疫治疗靶点提供了有效证据。

2.6 CD133 研究发现,肿瘤干细胞是肿瘤增殖、侵袭、转移和复发的主要原因^[52-54],CD133是胰腺癌肿瘤干细胞的表面标志物,尽管仅在极少数细胞中被检测到,但这部分细胞的成瘤能力较普通肿瘤细胞强百倍^[55-57]。因此,CD133可能是胰腺癌治疗的潜在靶点。有研究发现,CD133 CAR-T可以有效清除胰腺癌患者肿瘤中的CD133⁺细胞,有效抑制肿瘤复发^[58]。

3 胰腺癌CAR-T治疗的临床研究

2010年1月1日—2021年1月1日美国国立卫生院(National Library of Medicine, NLM, www.clinicaltrials.gov)收录的胰腺癌CAR-T治疗的临床研究如表1所示,这些临床研究涉及多个抗原靶点,包括MSLN、CEA、MUC1、EpCAM、HER2、Claudin18.2、PSCA、CD133、CD70、受体酪氨酸激酶样孤儿素受体2(ROR2)等。目前虽然有多项胰腺癌CAR-T临床试验还在进行中,但均处于临床早期,因此胰腺癌CAR-T临床治疗亟需深入研究。

4 胰腺癌CAR-T治疗的安全性评估

实体瘤CAR-T治疗的主要障碍之一为其毒性,包括脱靶效应、神经毒性、细胞因子风暴及过敏

反应等^[47,59-60]。一项靶向EGFR的胰腺癌CAR-T I期临床试验(NCT01869166),在接受治疗的16例患者中,2例出现胸腔积液、肺间质渗出毒性、细胞因子明显升高严重不良反应,1例出现呼吸困难、血氧不足、胸腔积液及C反应蛋白、IL-6等快速升高,8例出现发热症状,14例出现淋巴细胞减少,6例出现血小板减少症状^[17]。一项靶向HER2的I期临床试验(NCT01935843)中,81.8%的患者出现淋巴球减少,其中54.5%的患者症状达到3~4级;72.7%的患者出现恶心呕吐;63.6%的患者出现疲劳;所有患者均出现急性发热,其中1例症状达到3级;1例出现转氨酶异常升高^[61]。一项靶向MSLN的临床试验(NCT01583686)中,1例患者死亡,40%的患者发生严重不良反应,20%的患者出现缺氧、呼吸窘迫,所有患者均出现粒细胞、淋巴细胞、血小板减少症状。一项靶向HER2的胰腺癌CAR-T治疗结果显示,接受治疗后,患者15 min内出现呼吸窘迫、急性肺浸润,血清中IFN- γ 、IL-6、IL-10、TNF- α 、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)等细胞因子水平明显升高,并在5 d后死亡^[47]。上述研究结果表明,胰腺癌CAR-T治疗的安全性仍是一个严峻的问题,在临床治疗前必须全面评估CAR-T治疗的安全性。

有学者用非人灵长类猕猴建立了CAR-T安全性测试模型,用猕猴自体同源的CD20 CAR-T注射猕猴,发现猕猴血清中IL-6、IL-8、IL-1受体拮抗剂(interleukin1 receptor antagonist, IL1RA)、IFN- γ 诱导的单核细胞(monokine induced by gamma interferon, MIG)和干扰素诱导的T细胞 α 趋化剂(interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant, I-TAC)水平明显升高,脑脊液中IL-6、IL-2、GM-CSF和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平升高,表现出明显的细胞因子风暴和神经毒性^[62]。由于非人灵长类猕猴与人的亲缘关系较为接近,因此该研究为CAR-T安全性评估建立了一个可靠的模型。

5 总结与展望

CAR-T疗法在血液系统肿瘤中取得的成功为胰腺癌的临床治疗带来了新的希望,但却面临着诸多挑战,如胰腺癌肿瘤微环境的免疫抑制性、抗原缺乏或逃逸、T细胞难以进入肿瘤内部等。对于血液系统肿瘤,CAR-T细胞进入血液后可直接接触到肿瘤细胞,而胰腺癌的组织学特征阻止了CAR-T细胞进入肿瘤内部,因此很难彻底清除肿瘤;此外,CD19抗原存在于所有B细胞表面,因此靶向CD19

表1 胰腺癌CAR-T治疗临床试验

Tab.1 Clinical trial of CAR-T therapy for pancreatic cancer

NCT号	病情诊断	靶点	研究时段	开始时间	现状	研究单位
NCT03638193	胰腺癌	Mesothelin	-	2018	招募	南京市第一医院
NCT02706782	胰腺癌	Mesothelin	临床 I 期	2016	-	上海交通大学仁济医院
NCT03267173	胰腺癌	Mesothelin/PSCA/ CEA/HER2/ MUC1/EGFRv III	早期临床 I 期	2017	-	哈尔滨医科大学
NCT02465983	胰腺癌伴随转移	Mesothelin	临床 I 期	2015	终止	加利福尼亚大学(美国)
NCT03497819	胰腺癌	Mesothelin	早期临床 I 期	2017	-	温州医科大学第一附属医院
NCT03818165	胰腺癌肝转移	CEA	临床 I 期	2019	活跃, 不招募	罗杰威廉斯医疗中心(美国)
NCT03323944	胰腺癌	Mesothelin	临床 I 期	2017	活跃, 不招募	宾夕法尼亚大学(美国)
NCT04404595	胰腺癌/胃癌	Claudin18.2	临床 I 期	2020	招募	加利福尼亚大学、莫菲特癌症中心、 梅奥肿瘤医院、贝勒查尔斯萨蒙斯癌症中心
NCT04037241	胰腺癌肝转移	CEA	临床 II 期/III 期	2021	未招募	-
NCT04203459	胰腺癌	Mesothelin	-	2019	招募	哈尔滨医科大学第一附属医院
NCT04581473	胰腺癌/胃癌	Claudin18.2	临床 I 期/II 期	2020	未招募	北京肿瘤医院、复旦大学上海癌症中心、 天津医科大学癌症研究所
NCT02850536	胰腺癌肝转移	CEA	临床 I 期	2017	活跃, 不招募	科罗拉多医学院(美国)、罗杰威廉斯 医疗中心
NCT02959151	肝癌、转移性胰腺癌、 转移性结直肠癌	Mesothelin/CEA/ GPC3	临床 I 期/II 期	2016	-	上海肿瘤医院
NCT01897415	胰腺癌(转移)	Mesothelin	临床 I 期	2013	完成	宾夕法尼亚大学艾布拉姆森癌症中心
NCT02587689	胰腺癌、肝癌、非小细胞 肺癌、三阴性乳腺癌	MUC1	临床 I 期/II 期	2015	-	苏州PersonGen生物医学
NCT04348643	胰腺癌、肺癌、乳腺癌 、肝癌、胃癌	CEA	临床 I 期/II 期	2020	招募	重庆大学肿瘤医院
NCT02349724	胰腺癌、肺癌、乳腺癌 、结直肠癌、胃癌	CEA	临床 I 期	2014	-	重庆第三军医大学西南医院
NCT01583686	胰腺癌、肺癌、宫颈癌 、卵巢癌、间皮瘤	Mesothelin	临床 I 期/II 期	2012	终止	美国国立卫生研究院临床中心
NCT03013712	胰腺癌、胃癌、肝癌、 前列腺癌、食管癌	EpCAM	临床 I 期/II 期	2017	招募	成都医学院医疗信息中心
NCT03682744	胰腺癌、乳腺癌、结直 肠癌、胃癌	CEA	临床 I 期	2018	活跃, 不招募	新泽西罗格斯癌症研究所(美国)、罗 杰威廉斯医疗中心
NCT03960060	胰腺癌、胃癌、膀胱癌	ROR2	临床 I 期	2019	活跃, 不招募	上海中山医院
NCT03302403	胰腺癌、肝癌、B细胞 淋巴瘤、B细胞白血 病、骨髓瘤	Claudin18.2/CD19/ BCMA/GPC3	-	2017	活跃, 不招募	温州医科大学第一附属医院
NCT03638206	胰腺癌、肝癌、胃癌、 B-ALL、白血病、胃 癌、间质瘤等	Mesothelin/CD19/ CD22/CD33/ CD38/EGFRv III	临床 I 期/II 期	2018	招募	郑州大学第一附属医院
NCT02713984	胰腺癌、肺癌、乳腺 癌、结直肠癌、胃癌、 胶质瘤、卵巢癌	HER2	临床 I 期/II 期	2016	撤销	重庆第三军医大学西南医院
NCT02580747	胰腺癌、卵巢癌、间皮 瘤、三阴性乳腺癌	Mesothelin	临床 I 期	2015	-	解放军总医院生物治疗和小儿科
NCT02541370	胰腺癌、肝癌、卵巢 癌、结直肠癌、脑癌、 A-MLL	CD133	临床 I 期/II 期	2015	完成	解放军总医院生物治疗和小儿科
NCT02830724	胰腺癌、乳腺癌、卵巢 癌、肾癌、黑色素瘤	CD70	临床 I 期/II 期	2017	招募	美国国立卫生研究院临床中心
NCT02416466	胰腺癌肝转移	CEA	临床 I 期	2015	完成	美国罗杰威廉斯医疗中心
NCT03890198	胰腺癌、胃癌	Claudin18.2	早期临床 I 期	2019	终止	西安交通大学第一附属医院
NCT02744287	胰腺癌、胃癌、前列腺 癌	PSCA	临床 I 期/II 期	2016	招募	美国墨菲特癌症中心、哥伦比亚大学 医学中心、田纳西州肿瘤中心、贝勒 萨蒙斯癌症中心

PSCA. 前列腺干细胞抗原; CEA. 癌胚抗原; HER2. 人表皮生长因子受体2; MUC1. 黏蛋白1; EGFRv III. 表皮生长因子突变体 III; GPC3. 磷脂酰肌醇蛋白多糖-3; EpCAM. 上皮细胞黏附因子; ROR2. 受体酪氨酸激酶样孤儿素受体2; BCMA. B细胞成熟抗原; HER2. 人表皮生长因子受体2

的CAR-T可在血液肿瘤治疗中取得成功,而异质性是实体瘤的主要特征之一,导致不同个体、不同肿瘤细胞的表面抗原可能不同,因此CAR-T治疗实体瘤的难度较大;胰腺癌微环境较复杂,肿瘤内部大部分是由纤维基质组成,而肿瘤细胞仅占10%左右,微环境一方面阻止T细胞浸润,另一方面对T细胞具有抑制作用,使T细胞不能长时间存活。因此CAR-T在实体瘤中的应用仍需要进一步探索,可能需要更复杂的治疗策略,如联合使用抗体抑制免疫检查点或者抑制CAR-T细胞内部程序性细胞死亡蛋白1(programmed cell death protein 1, PD-1)等^[63-64]。

CAR-T细胞疗法在胰腺癌治疗中面临的另一项挑战是其安全性,包括脱靶效应、神经毒性、细胞因子风暴及过敏反应等^[47,59-60]。针对脱靶问题,有学者提出使用肿瘤细胞内部的天然抗原受体构建CAR-T细胞,可能有助于改善脱靶或抗原逃逸^[65];针对神经毒性、细胞因子风暴等问题,有学者提出,在开展正式临床试验前,可以先用与人类亲缘关系近的物种测试CAR-T细胞的安全性,如非人灵长类动物猕猴,后者被认为是最接近人类的大型实验动物^[66]。将猕猴来源的CAR-T细胞注射到对应的个体体内,通过检测猕猴的反应,包括食欲、发热、呼吸、腹泻、过敏等,并用ELISA检测血清中细胞因子及神经毒性相关因子的释放水平,进而综合评价CAR-T治疗的安全性,可为其临床应用提供可靠的依据。

通过改造CAR-T细胞本身的结构来提高其有效性、特异性及存活时间等是胰腺癌CAR-T治疗未来的发展方向,如构建Dual-CAR、添加趋化因子受体、基于天然配体-受体构建CAR-T等。考虑到胰腺癌中丰富的纤维基质,因此同时靶向肿瘤细胞和基质细胞的Dual-CAR可能具有更好的治疗效果;趋化因子受体如CCR2b、CCR4、CXCR2等可使细胞在肿瘤内的迁移能力增强^[67-68],如在小鼠实验中证实,CCR2b表达可使T细胞在肿瘤中的迁移能力提高12.5倍^[69];基于天然配体-受体构建的CAR-T较常规基于抗体的CAR-T具有一定优势,如同一个受体可以靶向多个受体,避免抗原丢失造成的免疫逃逸,基于天然配体构建的靶向NKG2D的CAR-T在胶质瘤和肝癌中已显示出较好的抑瘤作用^[70-71]。上述类似的方法同样适用于胰腺癌的免疫治疗。

综上,CAR-T疗法在胰腺癌治疗中应用前景广阔,但仍需解决多个问题:(1)探索表达稳定、具有普遍性的抗原靶点;(2)改造CAR的结构,增强CAR-T细胞的活性、存活能力及侵袭能力等;(3)改善CAR-T的毒性;(4)探索靶向胰腺癌微环境的CAR-T;(5)探索联合治疗方法,如联合免疫检查

点抑制剂、PD-1抑制剂或Dual-CAR-T等;(6)建立基于天然配体-受体的CAR-T。

【参考文献】

- [1] Yang J, Xu XF, Duan LF, *et al.* Action mechanism of Notch signaling pathway in pancreatic inflammation and tumor progression[J]. *Med J Chin PLA*, 2020, 45(2): 219-223. [杨娟, 许小凡, 段丽芳, 等. Notch信号通路在胰腺炎症及肿瘤进展中的作用[J]. *解放军医学杂志*, 2020, 45(2): 219-223.]
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [4] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [5] Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, *et al.* Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(11): 2913-2921.
- [6] Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, *et al.* Pancreatic cancer[J]. *Lancet*, 2020, 395(10242): 2008-2020.
- [7] Shao QN, Zhou HN, Xiao JY, *et al.* Construction and evaluation of a prognostic model based on preoperative NLR and PNI for pancreatic cancer after radical resection[J]. *Med J Chin PLA*, 2021, 46(10): 1009-1017. [邵全年, 周辉年, 肖竞英, 等. 基于术前NLR及PNI的胰腺癌根治术预后预测模型的构建及评价[J]. *解放军医学杂志*, 2021, 46(10): 1009-1017.]
- [8] Kleeff J, Korc M, Apte M, *et al.* Pancreatic cancer[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16022.
- [9] Abramson JS. Anti-CD19 CAR T-cell therapy for B-cell non-hodgkin lymphoma[J]. *Transfus Med Rev*, 2020, 34(1): 29-33.
- [10] Ying Z, Huang XF, Xiang X, *et al.* A safe and potent anti-CD19 CAR T cell therapy[J]. *Nat Med*, 2019, 25(6): 947-953.
- [11] Fry TJ, Shah NN, Orentas RJ, *et al.* CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy[J]. *Nat Med*, 2018, 24(1): 20-28.
- [12] Sadelain M. CAR therapy: The CD19 paradigm[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9): 3392-3400.
- [13] Fournier C, Martin F, Zitvogel L, *et al.* Trial watch: Adoptively transferred cells for anticancer immunotherapy[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(11): e1363139.
- [14] Ma S, Li XC, Wang XY, *et al.* Current progress in CAR-T cell therapy for solid tumors[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(12): 2548-2560.
- [15] Beatty GL, O'Hara MH, Lacey SF, *et al.* Activity of mesothelin-specific chimeric antigen receptor T cells against pancreatic carcinoma metastases in a phase 1 trial[J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(1): 29-32.
- [16] Hung CF, Xu X, Li L, *et al.* Development of anti-human mesothelin-targeted chimeric antigen receptor messenger RNA-transfected peripheral blood lymphocytes for ovarian cancer therapy[J]. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(5): 614-625.
- [17] Liu Y, Guo Y, Wu Z, *et al.* Anti-EGFR chimeric antigen receptor-modified T cells in metastatic pancreatic carcinoma: A phase I clinical trial[J]. *Cytotherapy*, 2020, 22(10): 573-580.
- [18] Guo Y, Feng K, Liu Y, *et al.* Phase I study of chimeric antigen

- receptor-modified T cells in patients with EGFR-positive advanced biliary tract cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(6): 1277-1286.
- [19] Teng R, Zhao J, Zhao Y, *et al.* Chimeric antigen receptor-modified T cells repressed solid tumors and their relapse in an established patient-derived colon carcinoma xenograft model[J]. *J Immunother*, 2019, 42(2): 33-42.
- [20] Zhang E, Yang P, Gu J, *et al.* Recombination of a dual-CAR-modified T lymphocyte to accurately eliminate pancreatic malignancy[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 102.
- [21] Alzubi J, Dettmer-Monaco V, Kuehle J, *et al.* PSMA-directed CAR T cells combined with low-dose docetaxel treatment induce tumor regression in a prostate cancer xenograft model[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 18: 226-235.
- [22] Kerkar SP, Muranski P, Kaiser A, *et al.* Tumor-specific CD8⁺ T cells expressing interleukin-12 eradicate established cancers in lymphodepleted hosts[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(17): 6725-6734.
- [23] Chmielewski M, Hombach AA, Abken H. Of CARs and TRUCKs: Chimeric antigen receptor (CAR) T cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma[J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1): 83-90.
- [24] Cannons JL, Choi Y, Watts TH. Role of TNF receptor-associated factor 2 and p38 mitogen-activated protein kinase activation during 4-1BB-dependent immune response[J]. *J Immunol*, 2000, 165(11): 6193-6204.
- [25] Philipson BI, O'Connor RS, May MJ, *et al.* 4-1BB costimulation promotes CAR T cell survival through noncanonical NF- κ B signaling[J]. *Sci Signal*, 2020, 13(625): eaay8248.
- [26] Burr JS, Savage ND, Messah GE, *et al.* Cutting edge: Distinct motifs within CD28 regulate T cell proliferation and induction of Bcl-X-L[J]. *J Immunol*, 2001, 166(9): 5331-5335.
- [27] Schrotten C, Kraaij R, Veldhoven JLM, *et al.* T cell activation upon exposure to patient-derived tumor tissue: A functional assay to select patients for adoptive T cell therapy[J]. *J Immunol Methods*, 2010, 359(1-2): 11-20.
- [28] Meiraz A, Garber OG, Harari S, *et al.* Switch from perforin-expressing to perforin-deficient CD8⁺ T cells accounts for two distinct types of effector cytotoxic T lymphocytes *in vivo*[J]. *Immunology*, 2009, 128(1): 69-82.
- [29] Textor A, Listopad JJ, Le Wührmann L, *et al.* Efficacy of CAR T-cell therapy in large tumors relies upon stromal targeting by IFN gamma[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(23): 6796-6805.
- [30] Simpson-Abelson MR, Purohit VS, Pang WM, *et al.* IL-12 delivered intratumorally by multilamellar liposomes reactivates memory T cells in human tumor microenvironments[J]. *Clin Immunol*, 2009, 132(1): 71-82.
- [31] Zhang E, Gu J, Xu H. Prospects for chimeric antigen receptor-modified T cell therapy for solid tumors[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 7.
- [32] Li J, Li WW, Huang KJ, *et al.* Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) immunotherapy for solid tumors: lessons learned and strategies for moving forward[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 22.
- [33] Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, *et al.* Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy[J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 541-550.
- [34] Qu CF, Li Y, Song YJ, *et al.* MUC1 expression in primary and metastatic pancreatic cancer cells for *in vitro* treatment by Bi-213-C595 radioimmunoconjugate[J]. *Br J Cancer*, 2004, 91(12): 2086-2093.
- [35] Chhieng DC, Benson E, Eltoum I, *et al.* MUC1 and MUC2 expression in pancreatic ductal carcinoma obtained by fine-needle aspiration[J]. *Cancer*, 2003, 99(6): 365-371.
- [36] Cheever MA, Allison JP, Ferris AS, *et al.* The prioritization of cancer antigens: A National Cancer Institute Pilot Project for the acceleration of translational research[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(17): 5323-5337.
- [37] Posey AD, Schwab RD, Boesteanu AC, *et al.* Engineered CAR T cells targeting the cancer-associated Tn-glycoform of the membrane mucin MUC1 control adenocarcinoma[J]. *Immunity*, 2016, 44(6): 1444-1454.
- [38] Yazdanifar M, Zhou R, Grover P, *et al.* Overcoming immunological resistance enhances the efficacy of a novel anti-tMUC1-CAR T cell treatment against pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1070.
- [39] O'Hara M, Stashwick C, Haas AR, *et al.* Mesothelin as a target for chimeric antigen receptor-modified T cells as anticancer therapy[J]. *Immunotherapy*, 2016, 8(4): 449-460.
- [40] Lv J, Zhao RC, Wu D, *et al.* Mesothelin is a target of chimeric antigen receptor T cells for treating gastric cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 18.
- [41] Haas AR, Tanyi JL, O'Hara MH, *et al.* Phase I study of lentiviral-transduced chimeric antigen receptor-modified T cells recognizing mesothelin in advanced solid cancers[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(11): 1919-1929.
- [42] He JC, Zhang ZW, Lv SQ, *et al.* Engineered CAR T cells targeting mesothelin by piggyBac transposon system for the treatment of pancreatic cancer[J]. *Cell Immunol*, 2018, 329: 31-40.
- [43] Zhang ER, Yang PW, Gu JY, *et al.* Recombination of a dual-CAR-modified T lymphocyte to accurately eliminate pancreatic malignancy[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 102.
- [44] van Manen L, Groen JV, Putter H, *et al.* Elevated CEA and CA19-9 serum levels independently predict advanced pancreatic cancer at diagnosis[J]. *Biomarkers*, 2020, 25(2): 186-193.
- [45] Chmielewski M, Hahn O, Rapp G, *et al.* T cells that target carcinoembryonic antigen eradicate orthotopic pancreatic carcinomas without inducing autoimmune colitis in mice[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(4): 1095-1107.e2.
- [46] Maliar A, Servais C, Waks T, *et al.* Redirected T cells that target pancreatic adenocarcinoma antigens eliminate tumors and metastases in mice[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(5): 1375-1384.e5.
- [47] 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.
- [48] Argani P, Rosty C, Reiter RE, *et al.* Discovery of new markers of cancer through serial analysis of gene expression: Prostate stem cell antigen is overexpressed in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(11): 4320-4324.
- [49] Wente MN, Jain A, Kono E, *et al.* Prostate stem cell antigen is a putative target for immunotherapy in pancreatic cancer[J]. *Pancreas*, 2005, 31(2): 119-125.
- [50] Abate-Daga D, Lagisetty KH, Tran E, *et al.* A novel chimeric antigen receptor against prostate stem cell antigen mediates

- tumor destruction in a humanized mouse model of pancreatic cancer[J]. *Hum Gene Ther*, 2014, 25(12): 1003-1012.
- [51] Katari UL, Keirnan JM, Worth AC, *et al*. Engineered T cells for pancreatic cancer treatment[J]. *HPB (Oxford)*, 2011, 13(9): 643-650.
- [52] Kim CFB, Jackson EL, Woolfenden AE, *et al*. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer[J]. *Cell*, 2005, 121(6): 823-835.
- [53] O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, *et al*. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice[J]. *Nature*, 2007, 445(7123): 106-110.
- [54] Collins AT, Berry PA, Hyde C, *et al*. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 10946-10951.
- [55] Li CW, Heidt DG, Dalerba P, *et al*. Identification of pancreatic cancer stem cells[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(3): 1030-1037.
- [56] Hsieh CC, Liao WY, Chen CL, *et al*. Identification of metastatic subsets of pancreatic cancer stem cells possessing metabolic features of pluripotent stem cells[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(15 Suppl): 1511.
- [57] Hermann PC, Huber SL, Herrler T, *et al*. Distinct populations of cancer stem cells determine tumor growth and metastatic activity in human pancreatic cancer[J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(3): 313-323.
- [58] Wang Y, Chen MX, Wu ZQ, *et al*. CD133-directed CAR T cells for advanced metastasis malignancies: A phase I trial[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(7): e1440169.
- [59] Lamers CHJ, Sleijfer S, van Steenbergen S, *et al*. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with CAIX CAR-engineered T cells: Clinical evaluation and management of on-target toxicity[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(4): 904-912.
- [60] Lee DW, Gardner R, Porter DL, *et al*. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome[J]. *Blood*, 2014, 124(2): 188-195.
- [61] Feng KC, Liu Y, Guo YL, *et al*. Phase I study of chimeric antigen receptor modified T cells in treating HER2-positive advanced biliary tract cancers and pancreatic cancers[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(10): 838-847.
- [62] Taraseviciute A, Tkachev V, Ponce R, *et al*. Chimeric antigen receptor T cell-mediated neurotoxicity in nonhuman primates[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(6): 750-763.
- [63] John LB, Devaud C, Duong CPM, *et al*. Anti-PD-1 antibody therapy potentially enhances the eradication of established tumors by gene-modified T cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(20): 5636-5646.
- [64] Chen N, Morello A, Tano Z, *et al*. CAR T-cell intrinsic PD-1 checkpoint blockade: A two-in-one approach for solid tumor immunotherapy[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(2): e1273302.
- [65] Gilham DE, Maher J. 'Atypica' CAR T cells: NKG2D and ErbB as examples of natural receptor/ligands to target recalcitrant solid tumors[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(9): 723-733.
- [66] Gibbs RA, Rogers J, Katze MG, *et al*. Evolutionary and biomedical insights from the rhesus macaque genome[J]. *Science*, 2007, 316(5822): 222-234.
- [67] Craddock JA, Lu A, Bear A, *et al*. Enhanced tumor trafficking of GD2 chimeric antigen receptor T cells by expression of the chemokine receptor CCR2b[J]. *J Immunother*, 2010, 33(8): 780-788.
- [68] Di Stasi A, De Angelis B, Rooney CM, *et al*. T lymphocytes coexpressing CCR4 and a chimeric antigen receptor targeting CD30 have improved homing and antitumor activity in a Hodgkin tumor model[J]. *Blood*, 2009, 113(25): 6392-6402.
- [69] Moon EK, Carpenito C, Sun J, *et al*. Expression of a functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human T cells expressing a mesothelin-specific chimeric antibody receptor[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(14): 4719-4730.
- [70] Yang D, Sun B, Dai H, *et al*. T cells expressing an NKG2D chimeric antigen receptor efficiently eliminate glioblastoma cells and cancer stem cells[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 171.
- [71] Sun B, Yang D, Dai H, *et al*. Eradication of hepatocellular carcinoma by NKG2D-based CAR-T cells[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(11): 1813-1823.

(责任编辑: 纪方方)