

免疫细胞治疗临床研究及相关产业现状与未来发展趋势

马洁¹, 刘彩霞¹, 谭琴¹, 昌晓红², 程洪艳², 王征旭³, 游嘉³, 武立华³, 程金莲⁴, 童春容⁵, 吴迪⁵, 王少华⁶, 曹彩^{6*}

1. 北京医院生物治疗中心 国家老年医学中心 中国医学科学院老年医学研究院, 北京 100730

2. 北京大学人民医院, 北京 100044

3. 中国人民解放军总医院 第七医学中心, 北京 100700

4. 首都医科大学附属北京中医医院, 北京 100010

5. 高博医学(血液病)北京研究中心 北京博仁医院, 北京 100070

6. 中关村玖泰药物临床试验技术创新联盟, 北京 100101

摘要: 随着医学技术的不断进步和科学研究的不断深入, 肿瘤免疫细胞治疗作为一种新的治疗方式受到社会各界的广泛关注, 成为辅助肿瘤治疗的一种新手段。过继免疫细胞治疗相继出现了不同类型的细胞——T淋巴细胞、细胞因子诱导的杀伤(CIK)细胞、树突状细胞(DC)-CIK细胞、自然杀伤(NK)细胞和肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)细胞等。日前开展的多种类型的免疫细胞临床研究在肿瘤治疗中已经体现出显著的疗效, 肿瘤免疫治疗成为快速发展的研究领域。如何选择肿瘤免疫细胞治疗方法和时机, 治疗过程中的质量控制和质量管理的应当怎么做, 如何得到更有说服力的循证医学证据, 是值得深入探索的重要问题。对目前的肿瘤免疫细胞治疗现状和未来5年发展做一概述, 初步探讨临床研究中的质量控制和质量管理的方向。

关键词: 免疫细胞治疗; 质量控制; 质量管理; 肿瘤; 细胞因子诱导的杀伤(CIK); 自然杀伤(NK)细胞; 肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)

中图分类号: R926 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)02-0234-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.02.001

Clinical study on immune cell therapy and current situation of relevant industries and future development trend

MA Jie¹, LIU Caixia¹, TAN Qin¹, CHANG Xiaohong², CHENG Hongyan², WANG Zhengxu³, YOU Jia³, WU Lihua³, CHENG Jinlian⁴, TONG Chunrong⁵, WU Di⁵, WANG Shaohua⁶, CAO Cai⁶

1. Center of Biotherapy, Beijing Hospital, National Center of Gerontology; Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China

2. Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

3. Seventh Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100700, China

4. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100010, China

5. Beijing Boren Hospital, GoBroad Medical Institute of Hematology, GoBroad Healthcare Group, Beijing 100070, China

6. Zhongguancun Jiutai Good Clinical Practice Union, Beijing 100101, China

Abstract: In recent years, with the continuous progress of medical technology and the deepening of scientific research, tumor immune cell therapy, as a new treatment method, has attracted wide attention and become an important method of adjuvant tumor therapy. In particular, different types of cells have emerged in adoptive immune cell therapy, such as T lymphocytes, CIK cells, DC-CIK cells, NK cells and TIL cells. Recently, clinical studies on immune cells have shown remarkable efficacy in clinic, thus tumor immunotherapy tend to be a rapidly developing field. How to select the method and timing for tumor immunotherapy, how to perform the quality control and quality management in the treatment process, and how to obtain more convincing evidences as

收稿日期: 2021-01-08

基金项目: 国家科技重大专项课题——重大新药创制(2016ZX09101094); 北京市科委企业技术创新平台建设(Z181100000518028)

第一作者: 马洁, 教授/研究员, 博士生导师, 研究方向为医学免疫、肿瘤纳米药物。

*通信作者: 曹彩, 女, 主任药师, 教授, 硕士生导师, 研究方向为临床研究。E-mail: caocai2k@aliyun.com

evidence-based medicine are all important issues worthy of further exploration. In this paper, the current status of tumor immune cell therapy and its development in the next five years is summarized, the quality control and quality management content in clinical research are preliminarily discussed.

Key words: immune cell therapy; quality control; cancer; cytokine-induced killer (CIK); natural killer (NK) cell; tumor infiltrating lymphocyte (TIL)

肿瘤是严重威胁人类健康和生命的主要疾病之一,每年全球罹患癌症的人数超过1 400万,而死于癌症的人数超过800万^[1]。高患病和死亡人数在一定程度上反映了临床上缺少有效防治手段的现状,这对肿瘤的预防和治疗提出了挑战。随着对肿瘤认识的不断深入,肿瘤治疗技术取得了很大的进步,特别是在靶向治疗、外科手术、化疗和放疗方面,显著改善了整体肿瘤治疗效果,但这些方法或多或少存在副作用大、易产生耐药性等问题^[2]。目前肿瘤生物免疫治疗已成为继上述几种治疗方法之外的一大新的治疗手段。肿瘤免疫疗法的出现让人们看到了解决这些问题的一丝曙光。

1 免疫细胞治疗临床研究及相关产业现状

近年来,随着国内外政策的放行与大力支持,免疫细胞治疗相关的各项临床研究在全球相继开展,细胞治疗的相关企业也随之兴起。其中免疫细胞治疗主要有:肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)疗法、细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)疗法、树突状细胞(dendritic cells, DC)疗法、DC-CIK细胞疗法、淋巴因子激活性杀伤细胞(lymphokine-activated killer, LAK)疗法、自然杀伤细胞(natural killer, NK)治疗等。

2011年, Nature 发表的文章^[3]表示免疫细胞治疗在未来有可能治愈癌症;2013年底,免疫细胞治疗被 Science 杂志评为年度十大科技突破之首;2014年,在美国举行的两场权威肿瘤学术会议——美国癌症研究会(AACR)和美国临床肿瘤学会年会(ASCO)上,免疫细胞治疗再次成为前沿聚焦点;2014年6月,西比曼在纳斯达克上市,成为至今唯一在美国纳斯达克上市的中国细胞生物医药科技公司;除此之外,辉瑞、诺和诺德、梯瓦制药、拜耳等公司也加大了细胞疗法临床研究的投入。

免疫细胞治疗产业,细胞治疗的实施主体为三甲医院;开展下游产业的模式一般有两种:一种为三甲医院自行开展此业务,另一种为三甲医院和企业合作,企业提供技术服务和支持,医院提供临床平台,进而实施治疗行为。该类企业主要是从事细

胞的增殖、制剂研发,并为科研组织和个人提供细胞,从而用于疾病的发病机制研究和新药研发。他们的盈利模式是通过为医院提供细胞技术体系收取服务费和专利费,或是为患者提供个体化治疗,再按一定的比例和医疗机构分享治疗费用。国外代表公司有:Juno Therapeutics、Kite Pharma、诺华集团、辉瑞公司、梯瓦制药工业有限公司、罗氏集团等。国内代表公司有:中源协和细胞基因工程股份有限公司、西比曼生物科技集团、深圳市合一康生物科技股份有限公司、博生吉医药科技(苏州)有限公司、安科生物科技股份有限公司、深圳源正细胞医疗技术有限公司等。国内近年来的免疫细胞治疗发展迅猛,但是技术相对还不够成熟,有待进一步提高。

1.1 CIK/DC-CIK细胞治疗临床研究及相关产业现状

截至2020年上半年,美国临床试验数据库(ClinicalTrials.gov)显示,CIK/DC-CIK细胞治疗的相关临床研究有108项,其中非洲1项、东亚87项、欧洲5项、中东1项、北美5项、美国5项、东南亚4项。涉及的疾病主要包括胰腺癌、胃癌、食管癌、膀胱癌、难治性非霍奇金淋巴瘤、结直肠癌、肺癌、肝癌、肾癌、三阴性乳腺癌、急性白血病、B细胞淋巴瘤等实体瘤和血液瘤。

关于CIK细胞治疗方案的大量临床试验已经发表,CIK细胞在呼吸系统肿瘤、消化系统肿瘤、泌尿系统肿瘤、乳腺及妇科肿瘤等实体肿瘤中的临床研究均有报道。Hontscha等^[4]对11项关于自体CIK过继细胞免疫治疗的临床研究进行了Meta分析,结果显示自体CIK细胞治疗可明显提高患者T细胞免疫功能、改善患者生活质量、延长疾病无进展生存期(PFS)和总生存期(OS),具有良好的疗效。一项CIK细胞作为辅助免疫疗法治疗肝癌观察其有效性的Meta分析显示^[5],CIK细胞治疗组患者存活率显著高于对照组;在非随机对照试验中接受CIK细胞治疗的患者PFS较高。Xu等^[6]在一项单中心、开放、III期随机对照试验中发现,接受4个周期的CIK治疗后可安全有效地延长术后肝癌患者的中位复发时间。一项负载金纳米棒的人CIK用于胃癌的

靶向光声成像、增强免疫治疗和光热治疗的研究显示,体内实验结果表明,金纳米棒标记的人CIK细胞在注射后4 h即可通过光声成像主动靶向和成像胃癌皮下血管,通过上调白细胞介素(IL)-1、IL-12、IL-2、IL-4、IL-17和干扰素- γ (IFN- γ)等细胞因子使免疫治疗效果更强^[7]。

常规治疗无效的晚期癌症患者的研究显示,持续注射DC-CIK可恢复CD8⁺细胞免疫,增强身体活动能力,提高临床疗效;DC-CIK联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床研究显示^[8-9],联合治疗组CD3⁺CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平均高于化疗组,CD3⁺CD8⁺低于化疗组,联合组客观缓解率(ORR)、疾病控制率(DCR)均高于化疗组,联合治疗组的不良反应显著低于对照组,延长了患者的生存期,显著提高了患者的免疫功能。此外,DC-CIK联合化疗加靶向治疗显著提高了晚期结肠癌患者的疾病控制率,改善了生活质量^[10]。

1.2 NK细胞治疗临床研究及相关产业现状

截至2020年上半年,ClinicalTrials.gov显示NK细胞治疗的临床研究761项,主要分布在东亚196项、美国213项、北美219项。此外,欧洲71项、东南亚18项、加拿大14项、非洲8项、中东7项、南美6项、日本3项、北亚、墨西哥和太平洋各2项。主要涵盖了急性髓系白血病、神经母细胞瘤、恶性胶质瘤、B细胞淋巴瘤、肝癌、胰腺癌、胆管癌等。

临床研究结果显示,将NK细胞治疗与放射治疗相结合,使肿瘤更容易受到NK细胞细胞毒活性的影响。最近发现尤文肉瘤细胞对扩增的同种异体NK细胞高度敏感,在原位小鼠模型中,放射治疗已被证明能显著增强NK细胞介导的对这些肿瘤的杀伤作用。NK细胞输注用于血液系统恶性肿瘤的治疗显示,同种异体NK细胞具有移植物抗白血病作用,能有效控制血液系统恶性肿瘤。在达到完全缓解或形态完全缓解的患者中,过继的NK细胞转移可以显著延长无病进展。在报告的28例患者中,4例完全缓解(CR)持续约1年,5例CR持续约1.5年,10例CR持续约2年^[11-12]。

1.3 TIL细胞治疗临床研究及相关产业现状

截至2020年上半年,Clinical trial.gov显示,TIL细胞的临床研究共93项。主要分布在北美34项、美国33项、欧洲20项。此外,东亚4项、加拿大2项。主要招募宫颈癌、转移黑色素瘤、非小细胞肺癌、鳞状细胞癌、卵巢癌、胆管癌等实体瘤患者。

在连续的几个黑色素瘤临床试验中^[13-14],TIL治

疗的一致ORR高达72%,其中10%~20%的治疗患者达到CR,40%的患者获得持久的临床反应。这些持久的反应主要见于在早期达到CR的患者,而且出现反应的机会似乎不受先前系统治疗进展的影响。TIL治疗黑色素瘤的令人鼓舞的结果刺激了世界各地的中心进行研究,以重现和优化这种治疗方法。优化的重点是细胞比例、制备方案和IL-2剂量。据不完全统计,全世界目前有20余项关于PD-1联合TIL治疗黑色素瘤的临床研究,以寻求TIL的治疗效果^[15]。

关于TIL过继免疫疗法的毒性,没有4级副作用[如危及生命,需要紧急治疗,参照常见不良反应术语评定标准(CTCAE)5.0版],只有3级恶心和呕吐。所有其他不良事件都是1级或2级,与IL-2注射有关,而与TIL无关。此外,没有观察到以前经历过的毒性的任何增加,例如使用伊匹单抗(ipilimumab),在给予联合治疗时是一个高度相关的发现^[15]。

1.4 $\gamma\delta$ T细胞治疗临床研究及相关产业现状

截至2020年上半年,Clinical trial.gov显示, $\gamma\delta$ T细胞在全球开展的临床共18项。其中东亚15项,北美、美国和南亚各1项。主要研究的是多药结核病、乙型肝炎、非霍奇金淋巴瘤、复发或难治性B细胞非霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、白血病、淋巴瘤等。

最近的临床试验表明, $\gamma\delta$ T细胞在治疗环境中正变得越来越明显。例如 $\gamma\delta$ T细胞在泌尿生殖系统肿瘤中显示出有效的作用,一些试验已经证明了基于 $\gamma\delta$ T细胞的免疫治疗的安全性和有效性。Bennouna等^[16]报告了6名(60%)接受 $\gamma\delta$ T细胞治疗的转移性肾癌患者的病情稳定(SD)。Matarollo等^[17]展示了使用V γ 9V δ 2T细胞、化疗药物、双膦酸盐和唑来膦酸盐对实体瘤衍生细胞具有高水平的细胞毒性。此外, $\gamma\delta$ T细胞还调节其他免疫和非免疫细胞。Carding等^[18]进一步证明了 $\gamma\delta$ T细胞作为关键的早期反应者和细胞因子产生者的作用。

肿瘤免疫学的最新进展证实了免疫抑制细胞和免疫检查点系统在抑制癌症患者肿瘤免疫反应中的重要作用。多项试验证明,使用 $\gamma\delta$ T细胞进行免疫治疗是安全和耐受性良好的。虽然基于 $\gamma\delta$ T细胞的免疫疗法有值得开发的优势,但仍有一些障碍需要克服。免疫治疗可能会引起明显的不良反应,如活化的 $\gamma\delta$ T细胞产生的促炎细胞因子,会引起严重的不良反应, $\gamma\delta$ T细胞免疫治疗的临床疗效有待

进一步评估。将新出现的治疗方法与现有的治疗方法相结合,可以最大限度地减少未来免疫重建的潜在副作用。严重不良反应和风险应通过受控的人体临床试验进行评估。寻找更好的抗原在体外刺激 $\gamma\delta$ T细胞,以便为过继细胞转移准备大量的细胞。最后,需要用联合的肿瘤靶向抗体来克服主要挑战, $\gamma\delta$ T细胞和肿瘤靶向抗体可能成为未来肿瘤免疫治疗的重要手段。

此外,截至2020年上半年,中国临床试验注册中心显示,CIK/DC-CIK细胞治疗的相关临床研究有22项;NK细胞治疗的临床研究涉及34项;TIL细胞治疗的临床研究共1项;关于 $\gamma\delta$ T细胞治疗的临床研究共5项。

2 有临床应用前景的细胞治疗种类概述

2.1 CIK细胞治疗

CIK细胞是20世纪90年代首次发现的一种异质细胞群,在其终末分化的 $CD3^+CD56^+$ 亚群中结合了T细胞和NK细胞的表型,具有非主要组织相容性复合体(MHC)限制性的肿瘤杀伤活性。CIK细胞是将人外周血单个核细胞在体外由多种细胞因子(如IFN- γ 、IL-2、抗CD3单抗)共培育后获得^[19],能分泌高浓度的IL-2、IL-6、凋亡相关因子配体(FasL)、肿瘤坏死因子(TNF)、IFN- γ 等多种具有直接细胞毒活性或抑制作用的细胞因子^[20],具有增殖快、活性高、杀瘤谱广等特点。

CIK细胞抗肿瘤的机制主要包括:①直接杀伤肿瘤细胞;②间接杀伤肿瘤细胞,CIK细胞通过释放多种细胞因子诱导效应T细胞分泌更多的炎症因子直接抑制肿瘤细胞生长或者通过调节机体免疫反应间接杀伤肿瘤细胞;③诱导肿瘤细胞凋亡,CIK细胞还表达凋亡抑制基因,延长抗肿瘤作用时间。

CIK细胞在最初的临床研究中提供了令人鼓舞的结果,并在与标准治疗程序相结合时显示出协同抗肿瘤作用。研究证实CIK细胞治疗1~2周后,患者外周血中CD3、CD4、CD4/CD8等T淋巴细胞均有不同程度的升高,淋巴细胞因子分泌增多,淋巴细胞功能增强,从而激活机体免疫系统,提高机体免疫功能。目前,CIK细胞的培养条件已经得到了广泛的改善,特别是应用IL-15代替IL-2或与IL-2一起应用的研究显示,CD56阳性的CIK细胞可以在更短的时间内产生;与单独使用IL-2扩增的细胞相比,表现出更强的细胞毒活性^[21]。

2.2 DC-CIK细胞治疗

DC是已知功能最强的专业抗原提呈细胞,具

有激活 $CD4^+$ 辅助T细胞和 $CD8^+$ 细胞毒性T细胞的能力。DC按来源分为髓系和淋巴系两大类。DC分布广泛但数量很少,约占人外周血单个核数量的1%。DC按功能分为未成熟DC和成熟DC,未成熟DC在外来抗原刺激后,其表面标志物发生改变,形成成熟的DC。成熟DC抗原提呈能力和启动免疫应答能力增强,分泌的因子刺激T淋巴细胞发挥免疫效应。

DC和CIK细胞是肿瘤免疫治疗两种重要细胞。DC-CIK是指将两者在体外共同培养,既促进DC成熟,又加强了CIK细胞杀瘤作用^[22]。

DC-CIK细胞主要通过以下机制抗肿瘤:DC与CIK共培养过程中,DC表面高表达HLA-DR、CD40、CD80,其与CIK高表达的相应共刺激分子受体结合,促使IL-12、IL-2及IFN- γ 等细胞因子分泌量增加,促使CIK细胞增殖。高水平的IL-12刺激CIK细胞高表达 $CD56^+$,增强CIK细胞杀瘤作用。DC-CIK共同培养还可以降低具有较强免疫抑制作用的调节性T细胞 $CD4^+CD25^+$ Treg细胞及IL-10分泌量,弱化其抗肿瘤抑制作用;还可以抑制hTERT蛋白表达,降低端粒酶活性,从而抑制肿瘤细胞的增殖。

CIK细胞被认为是肿瘤免疫治疗的理想候选细胞类型。大量的基础研究和临床研究表明,CIK治疗恶性肿瘤是安全可行的。CIK与免疫学或基因工程方法的结合已经被用来改善CIK的效果(图1)^[23],如CIK联合嵌合抗原受体(CAR),即CAR-CIK;CIK联合DC,即DC-CIK;CIK细胞联合纳米材料;未来CIK细胞的应用将具有良好的治疗前景。

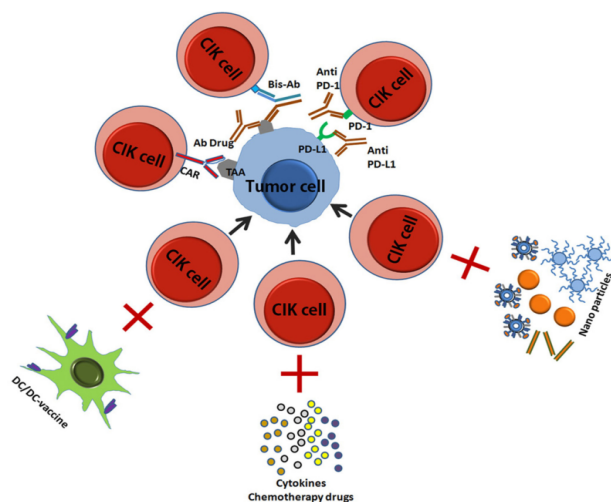


图1 CIK与多种方式结合治疗肿瘤^[23]

Fig. 1 CIK combined with a variety of approaches to treat tumors

2.3 NK细胞治疗

NK细胞在机体免疫监视和早期抗感染免疫过程中起重要作用,是抗癌免疫的第一线细胞。与T细胞不同,NK细胞以MHC不受限制的方式识别靶点,这些细胞对肿瘤细胞表现出很强的细胞毒活性,而不需要事先的致敏或免疫,并产生大量的细胞因子,导致随后的过继免疫系统的激活。NK细胞占单个核外周血细胞的5%~20%,在表型上通过CD16或CD56的存在以及CD3和CD19的缺失来定义^[24]。

NK细胞通过细胞表面的受体识别靶细胞,这种受体可以被各种条件抑制或刺激。要激活NK细胞,必须刺激受体。到目前为止已知的NK细胞作用机制:①贯穿穿孔素-颗粒剂系统,这些穿孔素的释放是细胞溶解最快、最有效的机制。在穿孔素缺乏的小鼠上,穿孔素对肿瘤的溶解能力降低,表明穿孔素对NK细胞的细胞毒性是必不可少的;一些研究已经表明穿孔素在追踪癌症复发风险方面的重要性;颗粒剂的作用还不清楚^[25]。②细胞凋亡的诱导由TNF配体家族完成。此机制速度较慢(几个小时)且效率较低。它需要细胞表面存在TNF配体,这些配体将与靶细胞表面的Fas受体结合。③活化的NK细胞通过IFN- γ 的活性,分泌多种细胞因子(IFN- γ 、TNF- α 、IL-10、IL-13等)。在干扰素的作用中,必须强调以下几点:通过刺激抗血管生成因子抑制体外细胞增殖,间接减缓体内肿瘤生长;增加肿瘤细胞对穿孔素和凋亡作用的敏感性;消除肉瘤和甲基胆蒎(致癌化学物质)诱导的转移;通过T淋巴细胞刺激DC细胞,从而间接促进肿瘤控制,如图2^[26]。

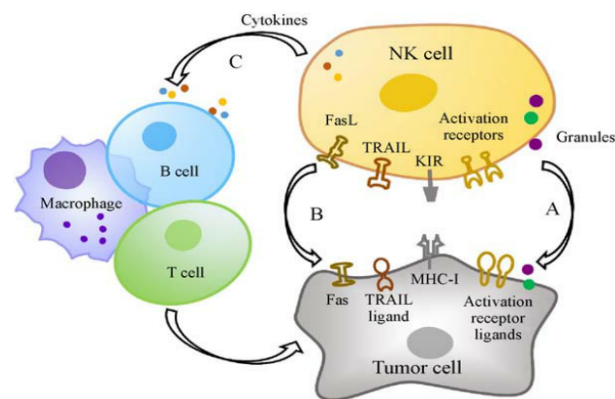


图2 NK细胞作用肿瘤细胞的方式^[26]

Fig. 2 The way NK cells act on tumor cells

NK细胞过继性免疫疗法是细胞生物治疗方法之一。该方法是向肿瘤患者回输体外诱导培养的NK细胞,在机体中直接或间接杀伤肿瘤细胞,从而

达到肿瘤治疗的目的^[27]。体外扩增NK细胞的过继细胞治疗具有重要的应用价值和前景。各种细胞来源,包括外周血单个核细胞(PBMCs)、干细胞和NK细胞系,已经被用于产生NK细胞。特别是从同种异体PBMC扩增的NK细胞比没有扩增的NK细胞显示出更好的疗效^[26]。使用NK细胞的免疫治疗是一种不依赖于HLA介导的肿瘤抗原识别的特异性过继性免疫治疗。自体 and 同种异体NK细胞都可以用于过继免疫治疗,因为它们的安全性和耐受性已被证明^[28-29]。随着肿瘤治疗模式的不断更新,过继性细胞免疫治疗在肿瘤综合治疗中的作用越来越受到重视,NK细胞相关的临床研究在全球广泛开展,用于治疗造血系统恶性肿瘤(如白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤)和实体肿瘤(如黑色素瘤、卵巢癌、肺癌、结直肠癌和胶质母细胞瘤)。

由于NK细胞在一线免疫应答中起关键作用且作用迅速,因此越来越多的研究集中在以NK细胞为基础的肿瘤免疫治疗上。以NK细胞为基础的癌症治疗的主要方法包括细胞因子、抗体,以及通过改善NK细胞的持续性、活化、数量或肿瘤细胞靶向性而过继转移体外NK细胞(图3)^[26]。

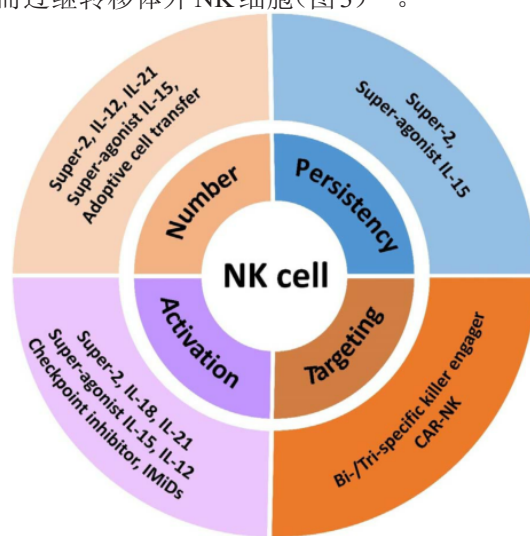


图3 以NK细胞为基础的肿瘤免疫治疗方法^[26]

Fig. 3 NK cell-based tumor immunotherapy

2.4 TIL细胞治疗

TIL的过继细胞疗法最早是由罗森博格的团队于1988年开发的。过继细胞疗法是一种特别有希望的方法,它利用内源性TIL,这些淋巴细胞从手术切除的肿瘤体外扩增,然后重新注入患者体内^[30-31]。在20世纪80年代末,研究表明黑色素瘤中的TIL可以在IL-2存在的情况下生长,并且它们可以识别自体肿瘤细胞。这一发现是黑色素瘤TIL的过继细胞疗法的基础,并指出TIL治疗黑色素瘤的疗效可能

与肿瘤特异性基因突变所产生的新抗原特异性T细胞有关。单中心回顾性研究中评估TIL治疗晚期黑色素瘤患者的有效性和安全性结果显示,在安全性方面,没有严重不良反应的报道,治疗反应包括CR、部分缓解、稳定2例、进展6例^[32]。

Hall等^[30]在人胰腺肿瘤TIL的扩增试验中得出,从胰腺肿瘤中扩增出来的TIL具有功能性,并能对胰腺肿瘤相关抗原产生应答。PD-1阻断、4-1BB刺激、CD8⁺T细胞富集是提高TIL产量和肿瘤反应性的有效策略。这些结果支持了使用TIL治疗胰腺癌的过继细胞治疗策略的发展。

一份关于骨髓浸润淋巴细胞过继免疫疗法治疗多发性骨髓瘤患者的报告显示,疾病负担显著减轻,无进展生存率增加^[33],表明这一概念已扩展到血液系统恶性肿瘤。

几项研究^[31,34]已经证明TIL的数量与患者预后之间存在明显的相关性。TIL的数量和TIL表型,特别是CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞的数量,可以预测许多肿瘤类型的无进展生存率和总生存率的增加,这些肿瘤包括黑色素瘤、头颈部鳞癌、结肠癌、胃癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌和卵巢癌。尽管TIL能够进入肿瘤组织并识别肿瘤特异性抗原,但由于高度的免疫抑制环境,它们的数量往往很少,无法控制肿瘤的生长。

TIL的过继细胞疗法在过去的10年里作为抗癌治疗越来越受到人们的关注。即T细胞从自体新鲜肿瘤组织中分离获取,经体外活化和广泛扩增后回输到患者体内(图4)^[30]。最终成熟的TIL细胞制品由CD8⁺和CD4⁺T细胞以高度可变的比率,以及占比非常小的 $\gamma\delta$ T细胞组成。传统上,TIL治疗的疗效主要归因于CD8⁺T细胞;然而,新的研究表明,在TIL制剂中也可以识别出肿瘤反应性CD4⁺T细胞^[30]。许多获得长期完全缓解的患者更多的是接受了以CD4⁺T细胞为主的TIL产品的治疗。

2.5 $\gamma\delta$ T细胞

免疫治疗是开发新型抗肿瘤药物的研究热点之一,过继免疫治疗是通过体外扩增免疫效应细胞,将激活的免疫细胞转移到宿主体内,靶向肿瘤细胞或刺激免疫反应清除肿瘤细胞^[35]。T淋巴细胞主要有两类: $\alpha\beta$ T和 $\gamma\delta$ T细胞。这两种T细胞的不同之处在于它们表达不同的细胞表面抗原受体。大多数 $\alpha\beta$ T细胞识别具有MHC I类或II类的抗原肽。在外周血液中, $\alpha\beta$ T细胞约占95%,而 $\gamma\delta$ T细胞仅占总CD3⁺细胞的5%。 $\gamma\delta$ T细胞具有分泌丰富细胞因

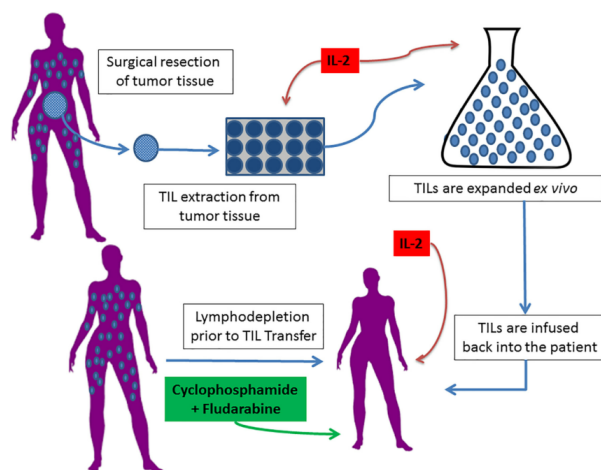


图4 TIL细胞免疫治疗流程图^[30]

Fig. 4 Flowchart of TIL cell immunotherapy

子的能力,它们对多种恶性肿瘤都有很强的细胞毒性(图5)^[30]。 $\gamma\delta$ T细胞产生的主要细胞因子是IFN- γ ,在抗病毒、抗细菌和抗肿瘤免疫中发挥着重要作用,是抗肿瘤免疫应答中的中枢性细胞因子。因此, $\gamma\delta$ T细胞已成为肿瘤免疫治疗的引人关注的效应细胞。 $\gamma\delta$ T细胞具有不受限制的MHC裂解活性,可以对细菌、病毒和肿瘤产生反应。因此,它们已成为过继细胞转移治疗的有吸引力的靶细胞^[36]。

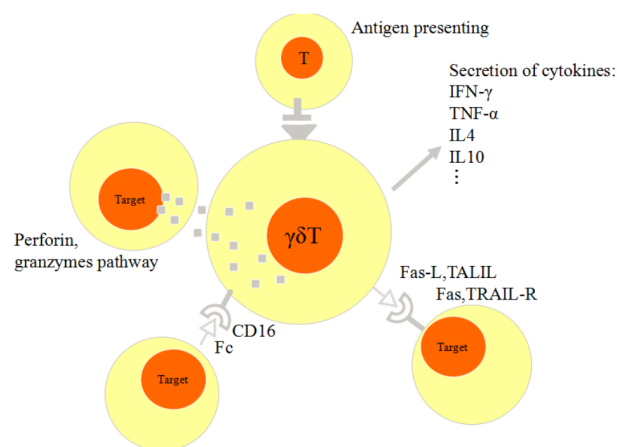


图5 $\gamma\delta$ T细胞抗肿瘤活性示意图^[30]

Fig. 5 Schematic figure of anti-tumor activity of $\gamma\delta$ T cells

以免疫系统对抗肿瘤是一种治疗措施,尽管进展缓慢,成功有限。 $\gamma\delta$ T细胞主要通过产生促凋亡分子和炎性细胞因子或通过依赖于抗原受体(TcR)的途径来调节抗肿瘤反应。在目前的临床试验中,利用 $\gamma\delta$ T细胞进行抗肿瘤治疗的主要障碍是 $\gamma\delta$ T细胞的扩增数量有限,缺乏一种连续可靠的方法。几项研究报告指出^[37,17],扩增 $\gamma\delta$ T细胞最有效和最广泛使用的方法是利用磷酸化抗原或抗 $\gamma\delta$ T细胞受体抗体。由于 $\gamma\delta$ T细胞在体外不受限制的裂解MHC活性,因此可广泛应用于抗肿瘤治疗。在几项临床

试验中^[38-40], $\gamma\delta$ T细胞能够在不同的肿瘤中发挥更好的疗效,包括肾癌、肺癌、黑色素瘤、乳腺癌等。在体外, $\gamma\delta$ T细胞对肿瘤有反应,而对正常细胞无反应,这也是很独特的。

3 未来发展趋势

细胞免疫治疗作为一种新兴的肿瘤治疗模式,与传统的肿瘤治疗方法相比,因具有安全性、针对性、持久性、全身性、彻底性以及适应证广等特点备受关注。免疫细胞治疗经过长足的发展,已经在多种肿瘤的治疗上发挥了很好的疗效,给人们带来了曙光。然而,如何进一步提高疗效与特异性,扩大适应证,是未来研究的方向^[41]。

DC是专职抗原提呈细胞,负责对抗原进行加工处理后提呈给T细胞,诱导T细胞的活化和增殖,激发有效的免疫应答。由于DC在免疫应答过程中的核心地位,而且DC在体外培养成功,使其成为肿瘤免疫治疗中最重要的力量之一。2010年DC疫苗成为第一个FDA批准的治疗性肿瘤疫苗。目前看来,单纯DC疫苗虽有疗效但仍须改进,需要寻找更为合适的肿瘤抗原、更有效地促进DC活化的方法或者与其他方法联合使用将是DC未来的一个发展方向。

此外,CIK细胞在体内外对多种肿瘤细胞表现出强大的抗肿瘤细胞毒性,有研究发现将DC细胞和CIK细胞共同培养时,T细胞促使DC进一步成熟后释放大量的IL-12、IFN- γ 等细胞因子,使CIK细胞对肿瘤细胞的细胞毒活性明显增强,且细胞扩增倍数上升,极大程度地提高了杀伤肿瘤细胞效率,且无明显毒副作用,使治疗达到1+1>2的效果^[42]。未来研究DC-CIK联合应用治疗多种癌症将成为细胞免疫治疗的另外一个方向。

如何最佳、最有效地培养出DC-CIK细胞,培养过程中细胞因子添加多少种和多少剂量;建立DC-CIK细胞免疫治疗临床路径,比如根据患者的肿瘤类型和临床分期寻找联合应用的最好组合,明确DC-CIK回输应用剂量,探讨经济实用的免疫监测指标和临床疗效评价体系是今后研究的方向。

如何提高NK细胞在体内的存活时间,更高效的扩增,如何增强NK细胞对肿瘤细胞的识别与杀伤能力,如何在GMP水平生产大规模的NK细胞等。随着精准医学、转化医学、高通量测序技术等前沿生物医学技术的发展,相信会不断解决存在的问题。例如开发CAR-NK细胞技术,通过对CAR-NK细胞和武装-NK细胞等细胞进行基因修饰,可

以实现NK细胞的特异性靶向或增强细胞毒性。为NK细胞的靶向治疗提供令人鼓舞的临床应用前景。

美国国立卫生研究院(SB,NIH,美国马里兰州贝塞斯达)外科分院在20世纪90年代首次展示了TIL治疗黑色素瘤患者的良好临床效果^[43],随后在世界不同地点进行的多项临床试验证实了这些结果。在这些试验中,一直可以观察到40%~70%的客观反应。随着过继细胞疗法与TIL联合应用范围的扩大,TIL生产的优化(包括T细胞亚群的选择)、临床方案的调整(包括淋巴清除准备方案和IL-2的作用)显得尤为重要。

在个性化癌症医学的时代,使用TIL的过继细胞治疗代表了一个独特的机会,以探索患者免疫系统的多样性和特异性^[30]。有效和安全的T细胞过继免疫治疗的靶点非常有限。提示TIL治疗黑色素瘤的疗效可能与肿瘤特异性基因突变所产生的新抗原特异性T细胞有关。寻找新的抗原将有利于开发一种“量身定做”的癌症免疫治疗方案。在下一代测序技术的最新进展的支持下,在较短的时间内以相对合理的成本在单个患者中检测到每种癌症特有的突变是可能的。以新抗原为靶点的免疫治疗有可能在不久的将来成为癌症患者治疗的现实选择。TIL与新的免疫疗法联合治疗的疗效有待进一步研究。

虽然基于 $\gamma\delta$ T细胞的免疫疗法有值得开发的优势,但目前仍存在一定的急需解决的问题,如免疫治疗可能会引起明显的不良反应;活化的 $\gamma\delta$ T细胞会产生促炎细胞因子,可能会引起严重的不良反应等。 $\gamma\delta$ T细胞免疫治疗的临床疗效有待进一步评估。将新出现的治疗方法 with 现有的治疗方法相结合,可以最大限度地减少未来免疫重建的潜在副作用。严重不良反应和风险应通过受控的人体临床试验进行评估。寻找更好的抗原在体外刺激 $\gamma\delta$ T细胞,以便为过继细胞转移准备大量的细胞。最后,需要用联合的肿瘤靶向抗体来克服主要挑战。 $\gamma\delta$ T细胞和肿瘤靶向抗体可能成为未来肿瘤免疫治疗的重要手段。

免疫细胞治疗经过长足的发展,已经在多种肿瘤的治疗上取得了很好的疗效。然而,如何进一步提高疗效与特异性,扩大适应证,是未来研究的方向。其中,对于免疫细胞的工程化修饰,如何简便可行并具有肿瘤与患者个体化特点,尚需进一步优化;进一步深入研究免疫细胞回输体内之后迁移过

程的分子机制以设法将其引导至肿瘤部位或者免疫激发器官,也是值得探索的一个方向;对于肿瘤细胞如何逃逸免疫监视与杀伤机制的深入研究,可以提供更多的肿瘤免疫治疗靶点。同时,结合精准

医学发展,筛选生物标志物,从而可以预筛选过继细胞治疗可以发挥作用的肿瘤患者,将对于肿瘤的免疫细胞治疗具有非常重要的指导意义。未来5年内可能的免疫细胞类型见图6。

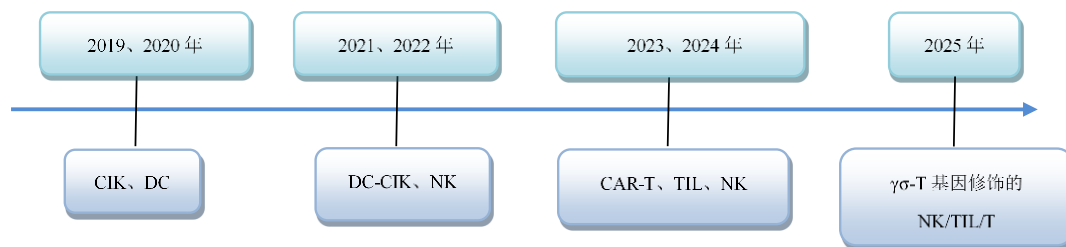


图6 2019—2025年免疫细胞治疗可能发展方向

Fig. 6 Possible directions for immune cell therapy in 2019—2025

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA: A Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] 毛艳艳, 黄瑶庆, 高柳滨. 肿瘤免疫治疗发展现状 [J]. 科技导报, 2017, 35(13): 61-65.
Mao Y Y, Huang Y Q, Gao L B. Current status of immunotherapy for cancer [J]. Sci Technol Rev, 2017, 35 (13): 61-65.
- [3] Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age [J]. Nature, 2011, 480(7378): 480-489.
- [4] Hontscha C, Borck Y, Zhou H, et al. Clinical trials on CIK cells: first report of the international registry on CIK cells (IRCC) [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2011, 137(2): 305-310.
- [5] Yu R L, Yang B, Chi X H, et al. Efficacy of cytokine-induced killer cell infusion as an adjuvant immunotherapy for hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis [J]. Drug Des Dev Ther, 2017, 11: 851-864.
- [6] Xu L, Wang J, Kim Y, et al. A randomized controlled trial on patients with or without adjuvant autologous cytokine-induced killer cells after curative resection for hepatocellular carcinoma [J]. Oncoimmunology, 2016, 5 (3): e1083671.
- [7] Yang Y, Zhang J, Xia F, et al. Human CIK cells loaded with Au nanorods as a theranostic platform for targeted photoacoustic imaging and enhanced immunotherapy and photothermal therapy [J]. Nanoscale Res Lett, 2016, 11 (1): 285.
- [8] 齐永霞. DC-CIK联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床研究 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(29): 5613, 5615.
Qi Y X. Clinical study of DC-CIK combined with chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer [J]. Elect J Clin Med Literar, 2017, 4(29): 5613, 5615.
- [9] 杜泽慧, 冯莉, 贾旭东, 等. DC-CIK联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床疗效 [J]. 当代医学, 2017, 23(16): 92-94.
- [10] 陈芬, 江千秋, 焦兰, 等. DC-CIK联合化疗加靶向治疗对晚期结肠癌的临床疗效观察 [J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(12): 66-70.
Chen F, Jiang Q Q, Jiao L, et al. Clinical observation of DC-CIK combined with chemotherapy and targeted therapy for advanced colon cancer [J]. J Mod Oncol, 2015, 23(12): 66-70.
- [11] Dolstra H, Roeven M W H, Spanholtz J, et al. Successful transfer of umbilical cord blood CD34⁺ hematopoietic stem and progenitor-derived NK cells in older acute myeloid leukemia patients [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23 (15): 4107-4118.
- [12] Rubnitz J E, Inaba H, Dahl G, et al. Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial [J]. Lancet Oncol, 2010, 11(6): 543-552.
- [13] Besser M J, Shapira-Frommer R, Itzhaki O, et al. Adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with metastatic melanoma: intent-to-treat analysis and efficacy after failure to prior immunotherapies [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(17): 4792-4800.
- [14] Andersen R, Donia M, Ellebaek E, et al. Long-lasting complete responses in patients with metastatic melanoma after adoptive cell therapy with tumor-infiltrating lymphocytes and an attenuated IL2 regimen [J]. Clin Cancer Res, 2016, 22(15): 3734-3745.
- [15] Rohaan M W, van den Berg J H, Kvistborg P, et al. Adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma: a viable treatment option [J]. J Immunother Cancer, 2018, 6(1): 102.
- [16] Bennouna J, Bompas E, Neidhardt E M, et al. Phase-I study of Innacell $\gamma\delta^{\text{TM}}$, an autologous cell-therapy product highly enriched in $\gamma\delta 2$ T lymphocytes, in combination with IL-2, in patients with metastatic renal cell

- carcinoma [J]. Cancer Immunol Immunother, 2008, 57(11): 1599-1609.
- [17] Mattarollo S R, Kenna T, Nieda M, et al. Chemotherapy and zoledronate sensitize solid tumour cells to Vgamma9Vdelta2 T cell cytotoxicity [J]. Cancer Immunol Immunother, 2007, 56(8): 1285-1297
- [18] Carding S R, Egan P J. Gammadelta T cells: functional plasticity and heterogeneity [J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(5): 336-45.
- [19] 王玲. DC-CIK 联合化疗对晚期肺癌病人的临床及免疫疗效观察 [D]. 南昌: 南昌大学, 2017.
Wang L. The clinical and immune effect of chemotherapy combined with dendritic cells co-cultured with cytokine-induced killer cells in the treatment of advanced lung cancer [J]. Nanchang: Nanchang University, 2017.
- [20] Verneris M R. Natural killer cells and regulatory T cells: how to manipulate a graft for optimal GVL [J]. Hematol Am Soc Hematol Educ Program, 2013, 2013: 335-341.
- [21] Tao Q S, Chen T P, Tao L L, et al. IL-15 improves the cytotoxicity of cytokine-induced killer cells against leukemia cells by upregulating CD3⁺CD56⁺ cells and downregulating regulatory T cells as well as IL-35 [J]. J Immunother, 2013, 36(9): 462-467.
- [22] 王凤, 田复明, 窦长武. DC-CIK 细胞抗肿瘤的研究进展 [J]. 内蒙古医学杂志, 2013, 45(4): 435-437.
Wang F, Tian F M, Dou C W. Advances in anti-tumor research of DC-CIK cells [J]. Inner Mong Med J, 2013, 45(4): 435-437.
- [23] Gao X, Mi Y, Guo N, et al. Cytokine-induced killer cells as pharmacological tools for cancer immunotherapy [J]. Front Immunol, 2017, 8: 774.
- [24] Tong A A, Hashem H, Eid S, et al. Adoptive natural killer cell therapy is effective in reducing pulmonary metastasis of Ewing sarcoma [J]. Oncoimmunology, 2017, 6(4): 1-8.
- [25] Pahl J, Cerwenka A. Tricking the balance: NK cells in anti-cancer immunity [J]. Immunobiology, 2017, 222(1): 11-20.
- [26] Fang F, Xiao W H, Tian Z G. Challenges of NK cell-based immunotherapy in the new era [J]. Front Med, 2018, 12(4): 440-450.
- [27] 徐道俊, 段清堂, 刘馨. NK 及 CAR-NK 细胞在肿瘤过继免疫治疗中的运用现状及研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2017, 26(15): 1806-1813.
Xu D J, Duan Q T, Liu X. Current situation and research progress of NK and CAR-NK cells in adoptive immunotherapy of tumor [J]. Chin J New Drugs, 2017, 26(15): 1806-1813.
- [28] Martín-Antonio B, Suñe G, Perez-Amill L, et al. Natural killer cells: angels and Devils for immunotherapy [J]. Int J Mol Sci, 2017, doi:10.3390/ijms18091868.
- [29] Veluchamy J P, Kok N, van der Vliet H J, et al. The rise of allogeneic natural killer cells as a platform for cancer immunotherapy: recent innovations and future developments [J]. Front Immunol, 2017, 8: 631.
- [30] Hall M, Liu H, Malafa M, et al. Expansion of tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) from human pancreatic tumors [J]. J Immunother Cancer, 2016, 4: 61.
- [31] Rosenberg S A, Restifo N P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer [J]. Science, 2015, 348(6230): 62-68.
- [32] Saint-Jean M, Le Moigne M, Daguze J, et al. Pyoderma gangrenosum under dabrafenib and trametinib for metastatic melanoma [J]. Acta Derm - Venereol, 2018, 98(5): 530-531.
- [33] Noonan K A, Huff C A, Davis J, et al. Adoptive transfer of activated marrow-infiltrating lymphocytes induces measurable antitumor immunity in the bone marrow in multiple myeloma [J]. Sci Transl Med, 2015, 7(288): 288ra78.
- [34] Restifo N P, Dudley M E, Rosenberg S A. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response [J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12(4): 269-281.
- [35] Zou C, Zhao P, Xiao Z, et al. $\gamma\delta$ T cells in cancer immunotherapy [J]. Oncotarget, 2017, 8(5): 8900-8909.
- [36] Deniger D C, Moyes J S, Cooper L J. Clinical applications of gamma delta T cells with multivalent immunity [J]. Front Immunol, 2014, 5: 636.
- [37] Tyler C J, Doherty D G, Moser B, et al. Human V γ 9/V δ 2 T cells: Innate adaptors of the immune system [J]. Cell Immunol, 2015, 296(1): 10-21.
- [38] Kobayashi H, Tanaka Y, Yagi J, et al. Phase I/II study of adoptive transfer of $\gamma\delta$ T cells in combination with zoledronic acid and IL-2 to patients with advanced renal cell carcinoma [J]. Cancer Immunol Immunother, 2011, 60(8): 1075-1084.
- [39] Johnson J R, Williams G, Pazdur R. End points and United States Food and Drug Administration approval of oncology drugs [J]. J Clin Oncol, 2003, 21(7): 1404-1411.
- [40] Body J J. Bisphosphonates for malignancy-related bone disease: current status, future developments [J]. Support Care Cancer, 2006, 14(5): 408-418.
- [41] 郭振红, 曹雪涛. 肿瘤免疫细胞治疗的现状及展望 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(2): 149-160.
Guo Z H, Cao X T. Current situation and prospect of tumor immune cell therapy [J]. Chin J Cancer Biother, 2016, 23(2): 149-160.
- [42] 王志华. CIK 细胞治疗癌症-国际临床试验的现状 & 展望 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(2): 129-137.
Wang Z H. CIK cell therapy for cancer: current status and prospect of international clinical trials [J]. Chin J Cancer Biother, 2013, 20(2): 129-137.
- [43] Rosenberg S A, Yang J C, Sherry R M, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(13): 4550-4557.

[责任编辑 兰新新]