



· 综述 ·

用于实体瘤治疗的缺氧敏感型CAR-T细胞的研究进展

薛影^{1,2}, 毛蕴玉^{1,2}, 徐建青^{1,2,3}

1. 复旦大学生物医学研究院, 上海 200030;
2. 上海市公共卫生临床中心, 上海 201540;
3. 复旦大学附属中山医院生物治疗中心, 上海 200030

[摘要] 嵌合抗原受体T (chimeric antigen receptor T, CAR-T) 细胞治疗作为一种肿瘤免疫疗法已经在血液系统肿瘤的临床治疗中取得良好效果。然而, 由于实体瘤缺乏肿瘤特异性抗原, 大多数CAR-T细胞以同样在机体其他正常组织器官中广泛表达的肿瘤相关抗原作为识别靶点, 导致脱靶效应的产生, 严重时甚至会危及患者生命。由于脱靶效应的存在, CAR-T细胞治疗在实体瘤治疗领域中的应用受到严重限制。为克服CAR-T细胞治疗中脱靶效应的影响, 可以利用肿瘤微环境中氧含量低的特点, 设计缺氧敏感型CAR-T细胞, 使其仅在乏氧的肿瘤微环境中表达靶向肿瘤相关抗原的CAR, 从而避免CAR-T细胞对正常组织器官的“误伤”。本文综述缺氧敏感型CAR-T细胞构建的常用元件和思路, 梳理近年来构建缺氧敏感型CAR-T细胞的研究进展, 有望加强CAR-T细胞治疗的安全性, 提高CAR-T细胞在实体瘤治疗中的效果。

[关键词] 嵌合抗原受体T细胞治疗; 缺氧敏感; 肿瘤微环境; 实体瘤

中图分类号: R730.5 文献标志码: A DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2023.01.008

Progress in construction of hypoxia-sensitive CAR-T cell for solid tumor therapy XUE Ying^{1,2}, MAO Yunyu^{1,2}, XU Jianqing^{1,2,3} (1. Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai 200030, China; 2. Shanghai Public Health Clinical Center, Shanghai 201540, China; 3. Biotherapy Center, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200030, China)

Correspondence to: XU Jianqing, E-mail: xujianqing@shphc.org.cn.

[Abstract] Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cell therapy, as a kind of tumor immunotherapy, has made remarkable achievements for the treatment of hematological malignancy. Disappointingly, regarding solid tumors, CAR-T cells generally target tumor-associated antigens that are also widely expressed in normal tissues because of the lack of tumor specific antigen, resulting in on-target off-tumor effects, which may even endanger patients' lives. Measures should be taken to overcome the off-target effects which severely limit the application of CAR-T cell therapy in solid tumors. A feasible strategy is to design hypoxia-sensitive CAR-T cells, which express CAR only in the hypoxic tumor microenvironment. Therefore, the redundant "accidental injury" can be avoided. In this review, common approaches as well as recent advances in the construction of hypoxia-sensitive CAR-T cells were discussed and summarized, which has guiding significance for enhancing the safety of CAR-T cell therapy and promoting the application of CAR-T cell in solid tumors.

[Key words] Chimeric antigen receptor T cell therapy; Hypoxia-sensitive; Tumor microenvironment; Solid tumor

1 嵌合抗原受体T (chimeric antigen receptor T, CAR-T) 细胞与肿瘤治疗
癌症一直是严重威胁人类生命安全的一类重

大疾病。尽管许多癌症患者的生存率有所提升, 一些国家肝癌、胰腺癌和肺癌患者的存活率增加了5%^[1], 然而, 癌症患者的生存状况仍然不容

第一作者: 薛影 (ORCID: 0000-0002-4144-3583), 硕士在读。

通信作者: 徐建青 (ORCID: 0000-0003-0896-9273), 博士, 研究员、博士研究生导师, E-mail: xujianqing@shphc.org.cn。

乐观。2021年最新全球癌症统计报告^[2]显示, 2020年全球新增癌症病例1 930万例, 新增癌症死亡人数近1 000万例。近年来, 除化疗、放疗、外科手术等传统的肿瘤治疗手段外, 光动力治疗、光热治疗、免疫治疗等新兴的治疗方式快速发展, 逐渐显示出其在癌症治疗领域中的独特优势, 将来或能为癌症的临床治疗提供新的手段, 为进一步降低癌症死亡率、提高癌症5年生存率带来希望。

CAR-T细胞治疗是一种有效的免疫治疗方式^[3], 其主要功能元件CAR包括胞外识别结构域、铰链及跨膜域和胞内信号域^[4]。在CAR-T细胞治疗过程中, 来源于患者的T细胞经过基因编辑后能够表达识别肿瘤表面抗原的CAR分子并被回输到患者体内。回输的CAR-T细胞通过其胞外识别域与肿瘤细胞表面抗原特异性结合, 胞内信号域进一步向胞内传导T细胞活化信号。激活后的CAR-T细胞通过释放穿孔素、颗粒酶等杀伤性分子, 高表达肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)配体, Fas/FasL等途径实现对肿瘤的杀伤^[5]。实际上, 在肿瘤患者机体内本身也存在一群对肿瘤组织有杀伤能力的T细胞, 即细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL)。然而, CTL对肿瘤细胞的识别依赖于靶细胞上的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I类分子对靶细胞抗原的提呈; CTL的活化依赖于抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)与CTL间共刺激分子的相互作用。在免疫系统与肿瘤的博弈过程中, 肿瘤进化出了一系列的逃逸机制来避免机体的免疫监视和免疫清除^[6], 其中就包括下调MHC I类分子的表达^[7]。而肿瘤免疫抑制微环境严重限制APC的作用, 共刺激信号被减弱, CTL细胞难以活化增殖, 最终走向耗竭。因此, 依靠癌症患者自身产生的CTL往往不能有效地抑制癌症生长, 控制肿瘤发展。而CAR-T细胞对肿瘤的认识不需要借助MHC I类分子的抗原提呈作用, CAR的结构中包含活化刺激信号, 不依赖APC提供第二信号。即使在免疫抑制的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中, 对于低

表达MHC I类分子的肿瘤细胞也能起到杀伤作用, 从而达到治疗癌症的目的。此外, CAR可靶向除蛋白质抗原外的糖脂类抗原, 从而扩大肿瘤抗原的靶向范围^[8]。

目前, CAR-T细胞治疗已经成功应用于血液系统肿瘤领域, 这在很大程度上依赖于CD19靶点的独特性质。CD19在B细胞恶性肿瘤及幼稚B细胞中高表达^[9], 在其他细胞及成熟B细胞(如浆细胞)中不表达。接受治疗的患者, 尽管表现出B细胞丢失的症状, 但是这一不良反应可以通过静脉注射免疫球蛋白替代治疗来控制^[10]。

在实体瘤的治疗中, 人们也希望能找到仅在实体瘤细胞表面表达的肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)作为CAR-T细胞治疗的靶点。对于与病毒感染密切相关的实体瘤, 可以将病毒抗原作为CAR-T细胞治疗的靶点。例如, 全世界50%~80%的肝癌由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起, 因此HBV表面蛋白^[11]被视为肝癌的理想靶点。同理, 对于EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染引起的相关恶性肿瘤(如鼻咽癌), EBV潜膜蛋白1作为EBV阳性患者CAR-T细胞治疗靶点的研究也已开展^[12]。然而, 对于大部分实体瘤来说, CAR-T细胞研究是以差异表达的肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)^[13]作为靶点。由于TAA在正常组织器官中也表达, CAR-T细胞会对其造成无差别杀伤, 从而引发严重的不良反应, 如细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、免疫效应细胞相关神经毒性综合征(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS)和细胞减少症等^[14]。在实体瘤中以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、间皮素(mesothelin, MSLN)、EGFR变体III、人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、前列腺特异性膜抗原(prostate-specific membrane antigen, PSMA)等TAA作为靶点的研究已开展, 但初步临床试验结果不尽如人意^[15]。在一项正在进行

的靶向cldn18.2的CAR-T细胞治疗的I期临床试验^[16]中,其中期分析结果显示,所有患者均出现3级或更高的血液学毒性,94.6%的患者发生1、2级CRS。此外,实体瘤所处的TME表现为免疫抑制性的特征,会在一定程度上限制CAR-T细胞的效力,造成CAR-T细胞对实体瘤的清除效果不佳^[17]。

由此可见,仅将单一的TAA作为靶向肿瘤细胞的工具并不能实现对癌症部位的精准定位,TME在肿瘤生成与发展中所起的作用对于CAR-T细胞治疗的影响也不容忽视。为克服上述瓶颈,实现CAR-T细胞治疗在实体瘤治疗领域中的应用,研究者提出了许多方案。其中一项可行的方法是基于TME有别于正常组织内环境的独特性质,构建既能靶向TAA又能靶向TME的CAR-T细胞。本文基于TME的缺氧特性,讨论缺氧敏感型CAR-T细胞构建的常用元件和思路,梳理近年来构建缺氧敏感型CAR-T细胞的研究进展,有望加强CAR-T细胞治疗的安全性,提高CAR-T细胞在实体瘤治疗中的效果。

2 TME的形成和特征

肿瘤被认为是一种涉及癌细胞与TME之间持续、动态的相互作用的进化和生态过程^[18]。TME支持侵袭性肿瘤行为,在肿瘤发展过程中,免疫细胞往往表现出表型和功能的不稳定性,并分化为不同的细胞类型或状态,从而促进或抑制肿瘤的生长和转移^[19],提供免疫逃避^[20]。TME由细胞和非细胞成分组成,细胞成分包括肿瘤细胞、成纤维细胞、间充质基质细胞(mesenchymal stromal cells, MSC)、髓系来源的抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)、免疫细胞、炎症细胞等^[21];非细胞成分包括细胞外基质及细胞分泌的可溶性分子(如细胞因子等)^[22]。基因突变导致肿瘤细胞表现为不受控的生长、对凋亡的抵抗、代谢向有氧糖酵解的转变等特征,使得TME呈现出缺氧、氧化应激和酸中毒等有别于正常组织微环境的特点。TME对于抗肿瘤治疗的效果及患者预后会产生关键影响,例如,TME会对T细胞的浸润产生明显的屏障作用,这也被认为是过继T细胞治疗

失败的一个重要原因^[23]。近年来,靶向TME的治疗策略受到了广泛关注,已有研究^[24]证实,TME可能是调节宿主免疫系统以支持免疫靶向治疗的可行策略。

在肿瘤最初形成时,细胞主要依靠渗透获得营养物质。随着肿瘤细胞迅速增殖,对氧气的需求量越来越高,肿瘤生长往往伴随着血管新生^[25]。然而,随着肿瘤的进一步异常增生,肿瘤细胞的快速扩张使得肿瘤对于氧和营养物质的需求无法由周围的血液供应维持,再加上肿瘤血管系统发育不完全,导致TME呈现出氧含量低的特点^[26]。在实体瘤部位中,氧含量仅占1%甚至更低^[27]。TME缺氧的特点及肿瘤细胞快速生长的需求又会迫使肿瘤细胞的代谢方式由氧化磷酸化向糖酵解发生转变,糖酵解产物乳酸在细胞质中生成并被运输到细胞外,导致细胞外酸化^[28-29]。缺氧、弱酸性不仅会导致常规治疗耐药性,缺氧驱动适应机制还为肿瘤细胞提供了生长优势,允许肿瘤细胞在缺氧的TME中继续生存甚至增殖。与此相对,TME为免疫细胞创造不适宜的环境并破坏关键调控通路,干扰效应细胞杀伤肿瘤的功能,阻碍免疫细胞向肿瘤组织的浸润,削弱机体自发的抗肿瘤免疫,诱导免疫耐受和免疫逃逸^[30]。由此可见,缺氧是诱导新血管生成、弱酸性等TME与正常组织内环境显著区别的关键因素,它与肿瘤组织的化疗耐药性、肿瘤转移性等患者不良预后特征息息相关^[31-32]。

3 缺氧诱导元件的工作机制

缺氧会对细胞正常的生理活动产生不利影响,为适应缺氧环境,肿瘤细胞往往表现出缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factors, HIF)信号转导通路的激活^[33]。HIF是一种在缺氧TME中激活并稳定表达的转录因子,能在肿瘤部位上调促癌基因的表达^[31],如血管内皮生长因子、血小板衍生生长因子和血管生成素-1等,从而触发一系列的细胞反应(如糖酵解、血管生成、凋亡分化)以抵消缺氧对细胞造成的负面影响^[33]。鉴于HIF在肿瘤组织发生、发展和侵袭中发挥的关键作用,许多研究团队也在尝试将以HIF为靶点的抑制剂用于肿瘤的治疗^[31, 34]。

HIF是一种异源二聚体复合物, 包含一个组成性表达的核HIF- β 亚基和一个胞质氧依赖的HIF- α 亚基^[26, 35-36]。哺乳动物中共有3种HIF- α 亚基: HIF-1 α 、HIF-2 α 及HIF-3 α , 分别在不同的组织器官中表达。其中, HIF-1 α 和HIF-2 α 是研究最为广泛的HIF- α 亚基, HIF-3 α 的功能还没有被很好地确定^[37]。HIF的稳定与HIF-脯氨酸羟化酶结构域蛋白密切相关^[38]。在常氧条件下, PHD-2使HIF- α 亚基氧依赖降解结构域(oxygen-dependent degradation, ODD)的脯氨酸残基发生羟基化, 随后, E3泛素连接酶pVHL蛋白附着在羟化的ODD脯氨酸残基上, 并作为E3泛素连接酶复合物的底物识别成分使HIF- α 亚基泛素化。最终, 泛素化的HIF- α 亚基被蛋白酶体降解。总之, 在细胞中的氧含量正常时, HIF- α 会发生迅速降解, 半衰期只有5 min, 基本不会被检测到^[39]。在细胞缺氧条件下, PHD的活性受到抑制, HIF- α 亚基不会发生羟基化、泛素化, 从而避免了被蛋白酶体降解。未被降解的HIF- α 亚基在细胞质中不断积累并转移到细胞核内, 与细胞核内的HIF- β 亚基形成异源二聚体复合物。异源二聚体HIF能够与靶基因上的缺氧反应元件(hypoxia-responsive elements, HRE)区域相结合, 介导下游基因的转录调控^[33, 40](图1)。

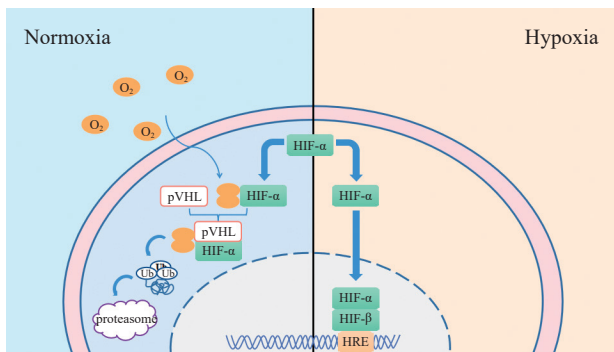


图1 HIF信号转导通路

Fig. 1 HIF signaling transduction pathway

4 缺氧敏感型CAR-T细胞的构建及研究现状

基于上述缺氧诱导元件能在缺氧条件下诱导基因转录表达的特性, 研究者们提出了缺氧敏感型CAR-T细胞的概念, 尝试克服传统CAR-T细胞治疗脱靶效应的缺陷, 扩大CAR-T细胞治疗的应

用范围。

其中一种构建思路是利用ODD在氧含量正常时易被降解的特性, 在CAR编码基因上串联ODD编码序列, 使得在正常组织器官中编码CAR的基因即使转录表达出来, 也很容易被蛋白酶体降解, 从而避免CAR-T细胞对正常体细胞的杀伤。Juillerat等^[41]设计构建了3种靶向CD19抗原的HIF-CAR, 在这3种类型的HIF-CAR中, CAR- α 链的C端分别连接了HIF- α 链380~603位的氨基酸(ODD大结构域, 记为HIF-CAR1), 344~417位的氨基酸(ODD N末端结构域, 记为HIF-CAR2)及530~652位的氨基酸(ODD C末端结构域, 记为HIF-CAR3), 结果显示, HIF-CAR1与HIF-CAR2细胞在低氧条件下可以测得CAR在细胞表面上的表达增加。Liao等^[42]比较了4种ODD的缺氧敏感性, 对比发现全长的HIF-1 α ODD具有最低的基线表达和最强的缺氧诱导表达, 缺氧敏感性最为严格, 因此, 研究者选择全长的HIF-1 α ODD作为缺氧敏感元件, 在缺氧条件下, 缺氧敏感性CAR-T细胞对于肿瘤细胞的杀伤能力相较于在常氧条件下显著增强, 作者还评估了缺氧敏感性CAR-T细胞对实体瘤的杀伤效果, 结果表明, 相较于常规CAR-T细胞, 缺氧敏感性CAR-T细胞的杀伤效果有所减弱, 但仍可有效地控制肿瘤生长。

另一种构建思路是在常规的仅携带CAR编码基因载体的基础上, 串联HRE启动子序列。只有在缺氧条件下, HIF二聚体入核与HRE结合后才能介导下游的编码CAR基因的表达。除此之外, 通过改变串联HRE启动子的重复数目, 能够调节缺氧条件的严格程度^[43]。串联的HRE重复数越多, 缺氧条件下目的基因的转录水平越高。ErbB受体家族是广受关注的TAA, 在许多种类的癌症中呈高表达。然而, 为转移性结肠癌患者静脉注射靶向ErbB2受体的CAR-T细胞会引发严重的CRS, 产生致命的不良反应。Kosti等^[44]通过在CAR上添加ODD, 同时在载体的长末端重复增强子区域添加9个连续的HRE, 构建了一个靶向ErbB2受体的严格缺氧调节的CAR表达系统。研究结果显示,

在HN3或SKOV3移植瘤小鼠模型中，CAR细胞在肿瘤中的表达均显著高于血液、肺、肝脏等其他组织。此外，静脉注射缺氧敏感性CAR-T细胞的小鼠体内白细胞介素-2（interleukin-2，IL-2）、 γ 干扰素（interferon- γ ，IFN- γ ）等细胞因子的表达水平没有显著提高，没有在小鼠身上观察到CRS的症状，说明缺氧敏感性CAR-T很好地避免了非缺氧敏感型CAR-T细胞脱靶效应引起的不良反应。

尽管已有许多构建缺氧诱导型CAR-T细胞的实验得到了开展，目前还没有缺氧敏感型CAR-T细胞治疗药物被批准上市并用于肿瘤治疗。通过添加缺氧诱导元件可以在一定程度上控制CAR在常氧与乏氧条件下的区别表达，但其控制的严格程度还有待进一步提升。理想情况下，缺氧诱导型CAR-T细胞能很好地区分肿瘤与正常组织，实现在不同部位CAR的“全或无”表达。然而，在实际应用中，常氧组织中仍可以观察到残留的CAR-T细胞。此外，人体内还存在一些健康的、低氧的组织如骨髓，CAR-T细胞可能对这些组织造成损伤^[45]。此外，缺氧诱导元件的添加使得CAR即使在缺氧条件下的表达也远达不到常规CAR-T细胞中CAR的表达水平。这也在一定程度上限制了CAR-T细胞的疗效，或需通过提高回输次数或数量来补偿，给治疗增加新的成本和负担。最后，尽管缺氧诱导型CAR-T能够控制CAR在不同空间中的表达，但是在进入人体后，难以对其表达时相加以监测和控制。理想情况下，CAR-T细胞在不同氧含量环境中切换时，其表面CAR的表达水平也应随着氧含量的变化得到迅速响应，从而在达到最佳的疗效的同时避免由于CAR降解延迟引起的非靶向毒性。ODD能实现在蛋白水平上的迅速调控，如前文中提到的Juillerat等^[41]的研究，在去除缺氧诱导因素后大约2 h内，CAR的表面表达下降了80%。此外，在转录水平上进行调控的HRE响应速度较慢，如前文中提到的结合了ODD与HRE的CAR表达系统，在缺氧培养18 h后，CAR的表达才达到了峰值。且对于在缺氧环境中顺利表达的CAR-T细胞，由于缺乏对其在蛋白质水平上的调控，也存在着潜在

的不良反应风险。如何实现CAR表达的严格控制从而增加其在不同氧含量环境中表达水平的差异性，如何在保证CAR-T细胞有效性的同时进一步增强安全性，以及如何平衡CAR表达的时相控制和空间控制，这是构建缺氧敏感型CAR-T细胞的研究中需要思考的问题。

5 总结与展望

作为肿瘤免疫治疗领域备受瞩目的治疗手段，CAR-T细胞治疗已经成功地应用于许多类型的血液瘤中。尽管目前该项技术还存在一些瓶颈，阻碍其推广到实体瘤的治疗中，但研究者也在积极地寻找针对上述局限的解决思路。由于CAR-T细胞治疗的不良反应绝大多数由脱靶效应引起，如何使CAR具备区分正常组织和肿瘤组织的能力成为关键。

缺氧与肿瘤组织的发生、发展密切相关，自从HIF信号转导通路发现几十年来，该通路相关蛋白被广泛地用于癌症治疗的研究中。例如，有研究^[46]表明，pVHL的缺失能够促进CAR-T细胞在TME部位的驻留。本综述重点介绍了利用TME缺氧的特点，借助HRE、ODD等缺氧敏感元件构建缺氧敏感型CAR-T的思路和优化方向。除本文中介绍的方法外，还有许多用于增加CAR-T细胞区分度的手段。例如，利用动力学原理制备与高表达TAA的肿瘤细胞亲和力更强而与低表达TAA的正常组织细胞亲和力低的CAR-T细胞，利用二价抗体提高CAR-T细胞对肿瘤组织的靶向性等。无论利用何种手段，只要设计得当，都能实现区分肿瘤组织与正常组织、克服脱靶效应的目标。尽管目前还没有针对实体瘤的CAR-T细胞治疗药物被批准上市用于临床治疗，但相信CAR-T细胞治疗必将逐渐发展成熟，并逐步推广到越来越多类型的肿瘤临床治疗中。

利益冲突声明：所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] ALLEMANI C, MATSUDA T, DI CARLO V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025

- patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries [J]. *Lancet*, 2018, 391(10125): 1023–1075.
- [2] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 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] HAN X L, BRYSON P D, ZHAO Y F, et al. Masked chimeric antigen receptor for tumor-specific activation [J]. *Mol Ther*, 2017, 25(1): 274–284.
- [4] 赵玲娣, 高全立. CAR-T细胞在肿瘤治疗中的研究进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 2015, 42(3): 190–194.
ZHAO L D, GAO Q L. Research progress of CAR T-cell in tumor therapy [J]. *Chin J Clin Oncol*, 2015, 42(3): 190–194.
- [5] 荣斌, 吴纯启, 原野, 等. CAR-T细胞治疗产品及其非临床评价研究概述 [J]. *中南药学*, 2019, 17(9): 1381–1385.
RONG B, WU C Q, YUAN Y, et al. Non-clinical evaluation of CAR-T cell therapy products [J]. *Central South Pharm*, 2019, 17(9): 1381–1385.
- [6] SHKLOVSKAYA E, RIZOS H. MHC class I deficiency in solid tumors and therapeutic strategies to overcome it [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6741.
- [7] GARRIDO F, APTSIAURI N. Cancer immune escape: MHC expression in primary tumours versus metastases [J]. *Immunology*, 2019, 158(4): 255–266.
- [8] 常征, 陈学武, 王丽, 等. 嵌合抗原受体T细胞治疗恶性肿瘤的研究进展 [J]. *药学研究*, 2015, 34(9): 534–536.
CHANG Z, CHEN X W, WANG L, et al. Research progress of chimeric antigen receptor modified T cells in malignant tumor [J]. *J Pharm Res*, 2015, 34(9): 534–536.
- [9] LIM W A, JUNE C H. The principles of engineering immune cells to treat cancer [J]. *Cell*, 2017, 168(4): 724–740.
- [10] JUNE C H, O'CONNOR R S, KAWALEKAR O U, et al. CAR-T cell immunotherapy for human cancer [J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1361–1365.
- [11] ZOU F, TAN J Z, LIU T, et al. The CD39+ HBV surface protein-targeted CAR-T and personalized tumor-reactive CD8+ T cells exhibit potent anti-HCC activity [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(5): 1794–1807.
- [12] TANG X J, ZHOU Y, LI W J, et al. T cells expressing a LMP1-specific chimeric antigen receptor mediate antitumor effects against LMP1-positive nasopharyngeal carcinoma cells in vitro and in vivo [J]. *J Biomed Res*, 2014, 28(6): 468–475.
- [13] 彭灿灿, 王惠明. CAR-T细胞治疗实体瘤的脱靶效应及优化方略 [J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(22): 2754–2758.
PENG C C, WANG H M. Off-target effect and optimization of CAR-T cell therapy in solid tumors [J]. *Chin J Immunol*, 2021, 37(22): 2754–2758.
- [14] SCHUBERT M L, SCHMITT M, WANG L, et al. Side-effect management of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(1): 34–48.
- [15] WANG Z G, WU Z Q, LIU Y, et al. New development in CAR-T cell therapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 53.
- [16] QI C S, GONG J F, LI J, et al. Claudin18.2-specific CAR-T cells in gastrointestinal cancers: phase 1 trial interim results [J]. *Nat Med*, 2022, 28(6): 1189–1198.
- [17] TCHOU J, ZHAO Y B, LEVINE B L, et al. Safety and efficacy of intratumoral injections of chimeric antigen receptor (CAR) T cells in metastatic breast cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(12): 1152–1161.
- [18] XIAO Y, YU D H. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 221: 107753.
- [19] LUO X, XU J, YU J H, et al. Shaping immune responses in the tumor microenvironment of ovarian cancer [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 692360.
- [20] SATILMIS B, SAHIN T T, CICEK E, et al. Hepatocellular carcinoma tumor microenvironment and its implications in terms of anti-tumor immunity: future perspectives for new therapeutics [J]. *J Gastrointest Canc*, 2021, 52(4): 1198–1205.
- [21] KUMARI S, ADVANI D, SHARMA S, et al. Combinatorial therapy in tumor microenvironment: where do we stand? [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1876(2): 188585.
- [22] PLUNDRICH D, CHIKHLADZE S, FICHTNER-FEIGL S, et al. Molecular mechanisms of tumor immunomodulation in the microenvironment of colorectal cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2782.
- [23] SIMSEK H, KLOTZSCH E. The solid tumor microenvironment—Breaking the barrier for T cells [J]. *BioEssays*, 2022, 44(6): 2100285.
- [24] GOLIWAS K F, DESHANE J S, ELMETS C A, et al. Moving immune therapy forward targeting TME [J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(2): 417–425.
- [25] LI Y, ZHAO L, LI X F. Hypoxia and the tumor microenvironment [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20: 15330338211036304.
- [26] SINGH S R, RAMESHWAR P, SIEGEL P. Targeting tumor microenvironment in cancer therapy [J]. *Cancer Lett*, 2016, 380(1): 203–204.
- [27] BERAHOVICH R, LIU X H, ZHOU H, et al. Hypoxia selectively impairs CAR-T cells in vitro [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(5): 602.
- [28] SCHILIRO C, FIRESTEIN B L. Mechanisms of metabolic reprogramming in cancer cells supporting enhanced growth and proliferation [J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1056.
- [29] VAUPEL P, MÜLTHOFF G. Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding [J]. *J Physiol*, 2021, 599(6): 1745–1757.
- [30] WANG B, ZHAO Q, ZHANG Y Y, et al. Targeting hypoxia in the tumor microenvironment: a potential strategy to improve cancer immunotherapy [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 24.
- [31] ALBADARI N, DENG S S, LI W. The transcriptional factors HIF-1 and HIF-2 and their novel inhibitors in cancer therapy [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2019, 14(7): 667–682.

- [32] AL TAMEEMI W, DALE T P, AL-JUMAILY R M K, et al. Hypoxia-modified cancer cell metabolism [J] . Front Cell Dev Biol, 2019, 7: 4.
- [33] FALLAH J, RINI B I. HIF inhibitors: status of current clinical development [J] . Curr Oncol Rep, 2019, 21(1): 6.
- [34] COWMAN S J, KOH M Y. Revisiting the HIF switch in the tumor and its immune microenvironment [J] . Trends Cancer, 2022, 8(1): 28-42.
- [35] LEE J W, BAE S H, JEONG J W, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF-1)alpha: its protein stability and biological functions [J] . Exp Mol Med, 2004, 36(1): 1-12.
- [36] 朱秀秀, 王 玲, 沈俊杰, 等. 靶向PSCA的缺氧诱导型CAR-T的构建及体外效能研究 [J] . 中国细胞生物学学报, 2019, 41(4): 636-644.
ZHU X X, WANG L, SHEN J J, et al. Construction and in vitro potency investigation of hypoxia-inducible CAR-T targeting PSCA [J] . Chin J Cell Biol, 2019, 41(4): 636-644.
- [37] LEE J W, KO J, JU C, et al. Hypoxia signaling in human diseases and therapeutic targets [J] . Exp Mol Med, 2019, 51(6): 1-13.
- [38] VITO A, EL-SAYES N, MOSSMAN K. Hypoxia-driven immune escape in the tumor microenvironment [J] . Cells, 2020, 9(4): 992.
- [39] KE Q D, COSTA M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) [J] . Mol Pharmacol, 2006, 70(5): 1469-1480.
- [40] CORRADO C, FONTANA S. Hypoxia and HIF signaling: one axis with divergent effects [J] . Int J Mol Sci, 2020, 21(16): 5611.
- [41] JUILLERAT A, MARECHAL A, FILHOL J M, et al. An oxygen sensitive self-decision making engineered CAR T-cell [J] . Sci Rep, 2017, 7: 39833.
- [42] LIAO Q B, HE H, MAO Y Y, et al. Engineering T cells with hypoxia-inducible chimeric antigen receptor (HiCAR) for selective tumor killing [J] . Biomark Res, 2020, 8(1): 56.
- [43] 陈文艳, 熊建萍. 肿瘤缺氧及其靶向治疗研究进展 [J] . 国际肿瘤学杂志, 2006, 33(1): 8-11.
CHEN W Y, XIONG J P. Research progress of tumor hypoxia and its targeted therapy [J] . J Int Oncol, 2006, 33(1): 8-11.
- [44] KOSTI P, OPZOOMER J W, LARIOS-MARTINEZ K I, et al. Hypoxia-sensing CAR T cells provide safety and efficacy in treating solid tumors [J] . Cell Rep Med, 2021, 2(4): 100227.
- [45] BRANDT L J B, BARNKOB M B, MICHAELS Y S, et al. Emerging approaches for regulation and control of CAR T cells: a mini review [J] . Front Immunol, 2020, 11: 326.
- [46] LIIKANEN I, LAUHAN C, QUON S, et al. Hypoxia-inducible factor activity promotes antitumor effector function and tissue residency by CD8+ T cells [J] . J Clin Invest, 2021, 131(7): e143729.

(收稿日期: 2022-07-18 修回日期: 2022-10-27)