

肝细胞癌过继细胞疗法研究进展*

赫丽杰^① 李婷婷^② 张宇^② 李景圆^③ 荣耀星^② 王大庆^①

【摘要】 肝细胞癌是严重威胁人类生存的一类疾病, 中国肝细胞癌死亡率居世界第三。由于肝细胞癌发病早期无特异性症状, 晚期的治疗方案又存在复发率高等的种种弊端, 因此寻找行之有效的治疗新方法迫在眉睫。过继细胞疗法是一种细胞免疫疗法, 在肝脏多样化和复杂的免疫微环境中, 通过结合肿瘤特异性抗原或是非特异性的调节免疫平衡, 过继细胞疗法在肝细胞癌的治疗中逐渐发挥出优势。在这篇综述中我们阐述了肝细胞癌靶向治疗常用生物标志物的形态结构及信号通路, 探讨总结了近年来过继细胞疗法治疗肝细胞癌的研究手段及取得的临床效果, 并对接下来的研究方向进行了展望。

【关键词】 肝细胞癌 生物标志物 自然杀伤细胞 T 细胞受体 嵌合抗原受体 T 细胞

Research Progress of Adoptive Cell Therapy for Hepatocellular Carcinoma/HE Lijie, LI Tingting, ZHANG Yu, LI Jingyuan, RONG Yaoping, WANG Daqing. //Medical Innovation of China, 2024, 21(09): 173-180

【Abstract】 Hepatocellular carcinoma is a kind of disease that seriously threatens human survival. The mortality of hepatocellular carcinoma in China is the third in the world. Because there are no specific symptoms in the early stage of hepatocellular carcinoma, and the treatment scheme in the late stage has various disadvantages such as high recurrence rate, it is urgent to find effective new treatment methods. Adoptive cell therapy is a kind of cellular immunotherapy. In the diversified and complex immune microenvironment of the liver, adoptive cell therapy gradually plays an advantage in the treatment of hepatocellular carcinoma by combining tumor specific antigen or non-specific regulation of immune balance. In this review, we describe the morphological structures and signaling pathways of common biomarkers for targeted therapy of hepatocellular carcinoma, and discusses and summarizes the research methods and clinical effects of adoptive cell therapy for hepatocellular carcinoma in recent years, and looks forward to the next research direction.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma Biomarker Natural killer cell T cell receptor Chimeric antigen receptor T cell

First-author's address: Department of Oncology, the People's Hospital of Liaoning Province, Shenyang 110013, China

doi: 10.3969/j.issn.1674-4985.2024.09.039

肝细胞癌 (HCC) 是世界范围内第二常见的致死性肿瘤疾病, 在全球范围内发病率呈上升趋势。在我国, HCC 发病例数和死亡例数均占全世界总数的 50% 以上, 死亡率居世界第三位。经研究调查, HCC 患者 5 年生存率为 18%, 发病率占有肝脏肿瘤疾病中的 90%^[1]。然而, HCC 的早期检测仍然很困难, 因为患病初期患者没有特异性的症状^[2]。肝硬化或代谢性疾病, 丙型肝炎病毒 (HCV)、乙型肝炎病毒 (HBV) 等是 HCC 发病的主要原因^[3], 然

而, 目前为止对以上原因引起的 HCC 都没有研究出行之有效的特异性药物疗法^[4], 常见的 HCC 治疗方案有根治性治疗方案, 例如切除、移植、消融和联合治疗; 姑息性治疗方案, 例如经导管动脉化疗栓塞术 (TACE)、全身疗法和支持疗法^[5], 然而根治性治疗方案存在复发风险高的弊端, 因此, 目前 HCC 的研究重点是开发创新策略和抗肿瘤药物^[6]。免疫疗法自提出以来逐渐成了癌症治疗的研究重心, 但是, 免疫疗法并不是对所有癌症都普遍

* 基金项目: 2020 年度沈阳市科学技术计划 - 公共卫生研发专项项目 (20-205-4-012)

①辽宁省人民医院肿瘤科 辽宁 沈阳 110013

②沈阳汇智细胞产业技术创新研究院有限公司 辽宁 沈阳 100196

③沈阳细胞治疗工程技术研发中心有限公司 辽宁 沈阳 100196

通信作者: 王大庆

有效^[7]。由于肝脏具有多样化和复杂的免疫微环境，HCC被认为是一种免疫原性肿瘤^[8]，晚期HCC常伴有免疫衰竭，调节性T细胞、髓源性抑制细胞和衰竭的T细胞数量增加^[9]，因此，机体本身无法有效的控制疾病的发展，随着免疫疗法的研究，过继细胞疗法作为HCC的一种新型治疗方案而受到关注。常见的过继细胞疗法手段包括嵌合抗原受体T(CAR-T)细胞、自然杀伤(NK)细胞、T细胞受体(TCR)及细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)、树突状细胞-细胞因子诱导的杀伤细胞(DC-CIK)。

截至目前，已经发现了多种在HCC早期检测或治疗中发挥作用的生物标志物，本文简单介绍了常用生物标志物的结构及HCC相关的信号通路，并讨论现今HCC过继细胞疗法的研究现状及治疗效果，并对今后过继细胞疗法的研究方向进行了总结和展望。

1 常用生物标志物

GPC3基因位于X染色体，是由580个氨基酸构成的核心蛋白^[10]。人类GPC3核心结构域的晶体结构和果蝇直向同源Dally样蛋白(Dlp)相似，呈现出一个 α 螺旋结构，但是相较于DLP具有更弯曲的形状^[11]。GPC3在HCC、生殖细胞肿瘤、黑色素瘤中过表达，但在胆管细胞癌、胆囊癌或良性肝组织中不表达，与肿瘤的发生和预后密切相关^[12]。此外，GPC3在肝癌发生的早期阶段表达，有可能使HCC的早期检测成为可能^[13]。甲胎蛋白(AFP)是分子量为69~70 kDa的一种糖蛋白，由590个氨基酸组成^[14]，是HCC最广泛使用的生物标志物之一，然而也有报道指出HCC患者中约20%的病例检测不到AFP的分泌^[15]。

2 HCC相关的信号通路

研究证明，HCC进程中存在c-Myc的过表达，而c-Myc是典型的Wnt信号传导的目标，而典型Wnt/ β -catenin介导的信号通路，可以刺激HCC生长^[16]。在HCC患者的疾病进程中，大约95%的患者表现出Wnt/ β -catenin失调^[17]。 β -catenin与淋巴增强因子/T细胞因子(LEF/TCF)转录因子家族的成员相关，能够诱导刺激细胞周期进程和细胞存活的基因表达，促进细胞增殖^[18]。Hh信号调节障碍也会促进HCC病程的发展^[19]。Hh信号通路依赖于其与细胞表面的Patched蛋白的结合，使Patched蛋白对Smo的抑制能力受到影响，HCC表面抗原与Hedgehog的相互作用有高亲和力，能够与Patched

竞争Hedgehog的结合，对于Hedgehog信号存在负反馈^[20]。除了Wnt和Hedgehog信号通路外，还可以通过与细胞外基质中的多种相互作用影响细胞增殖，包括Hippo、HGF、IGF和FGF信号通路^[21]。

3 过继细胞疗法治疗HCC

3.1 CAR-T细胞

CAR-T细胞疗法是将T淋巴细胞修饰后，使其具有识别特定抗原的能力并用于肿瘤治疗的靶向免疫治疗方法^[22]。Li等^[23]构建了基于hYP7的CAR-T细胞，在异种移植或原位HCC小鼠中，CAR-hYP7-T细胞能够消除GPC3阳性肿瘤细胞，其机制有可能是降低肿瘤细胞中的Wnt信号传导，或是通过诱导穿孔素和颗粒酶介导肿瘤细胞凋亡。CAR-T细胞疗法在临床上的研究应用较广泛，Shi等^[24]构建了二代CAR-GPC3 T细胞(4-1BB)治疗复发难治型HCC小患者，招募的13例患者中1年总存活率为42%，其中1例的存活时间达到44.2个月。Sun等^[25]报道了1例在肝肿瘤切除后出现了复发和肺转移的HCC患者接受CAR-GPC3 T细胞治疗的临床研究，在淋巴细胞清除后进行CAR-GPC3 T细胞与索拉非尼联合治疗，结果显示肿瘤在36个月内没有扩大，治疗12个月之后达到完全缓解状态，并维持完全缓解状态超过24个月。为了弥补单一抗原的弊端，Cao等^[26]还开发出一种新型双特异性T细胞接合器CAR-T(CAR-T-BiTE)，使其在表达GPC3特异性的同时还分泌针对B7-H3的BiTE，在体外实验中显示GPC3-BiTE CAR-T细胞对于表达GPC3/B7H3的细胞系的细胞毒性大于GPC3 CAR-T细胞，并且对于GPC3阴性细胞系也表现出抑制作用。

然而，由于活化的CAR-T细胞上会表达程序性死亡受体1(PD-1)，而肿瘤细胞及其微环境能够表达程序性死亡受体配体1(PD-L1)和PD-L2。PD-1与配体的结合会抑制T细胞活化，造成免疫逃逸^[27]。为了寻找应对的解决办法，Li等^[28]建立了一种双靶点CAR，其具有抗PD-1单链片段可变scFv和抗GPC3 scFv的细胞外抗原识别域，以帮助CAR-T细胞识别GPC3并且抵抗PD-1抑制信号，实验结果显示双靶点CAR-T细胞对GPC3高表达的HuH-7细胞表现出更强的消除作用，并且对高表达PD-L1的HuH7细胞毒性增强。能够使成瘤的NOD/SCID小鼠肿瘤生长速度降低，存活时间显著延长。

为了应对PD-1及其配体结合抑制CAR-T功能

的问题, Li 等^[29]也构建了一个半合成的鲨鱼 VNAR 噬菌体文库并分离出抗 PD-L1 单域抗体 (B2), 在此基础上通过与 GPC3 和 B2 慢病毒共转导生产双特异性 CAR-T 细胞, Hep3B 细胞毒性试验中显示, 双特异性 CAR-T 细胞的细胞毒性显著高于任何一种单特异性 CAR-T 细胞, 但是在 Hep3B 异种移植小鼠模型中, 出乎意料的是双特异性 CAR-T 细胞未能减轻肿瘤负荷, 且效果比单特异性 CAR-T 细

胞差。由此看来对于解除 PD-1 抑制作用的研究还需要继续深入的探索。

由于 CAR-T 细胞疗法在以往的研究中取得了较为乐观的进展, 因此, 针对 CAR-T 靶向治疗, 科学界进行了大量的研究。仅以最常见靶位点 GPC3 为例, 截至目前 (2023 年 5 月 17 日) 在美国国立卫生院的临床试验注册中心登记的 CAR-T 细胞疗法临床试验总结见表 1。

表1 CAR-T细胞疗法治疗HCC的临床试验

项目编号	状态	阶段	入组人数	主要结果指标	次要结果指标	国家
NCT05620706	招募中	N/A	20	不良事件 / 严重不良事件	总体反应率	中国
NCT04121273	未知	第一阶段	20	不良反应	肿瘤体积 / 外周肿瘤标志物 (AFP) / 外周 CAR-T 细胞数量	中国
NCT05003895	招募中	第一阶段	38	安全性和可行性	总生存期 / 最佳总体反应率	美国
NCT03084380	未知	第二阶段	20	安全性	完全缓解率 / 持久性	中国
NCT02395250	完成	第一阶段	13	不良事件	无	中国
NCT04951141	招募中	第一阶段	10	不良事件	客观缓解率 / 总生存期	中国
NCT05070156	招募中	第一阶段	3	不良事件	CAR-T 细胞动力学 / 药效学 / 无进展生存期 / 总生存期 / 客观缓解率 / 疾病控制率	中国
NCT05344664	尚未招募	第一阶段	12	不良事件	无	中国
NCT02905188	完成	第一阶段	9	剂量限制毒性	完全缓解或部分缓解率 / 持久性	美国
NCT03198546	完成	第一阶段	30	剂量限制毒性	完全缓解或部分缓解率 / 持久性	中国
NCT05103631	招募中	第一阶段	27	剂量限制毒性	完全缓解或部分缓解率 / 持久性	美国
NCT03980288	完成	第一阶段	6	安全性和耐受性	细胞数 / 不良事件 / 无进展生存期 / 疾病控制持续时间 / 总生存期 / 疾病控制率	中国
NCT03884751	完成	第一阶段	9	安全性和耐受性	药代动力学 / 不良事件 / 无进展生存期 / 疾病控制持续时间 / 总生存期 / 疾病控制率	中国
NCT02715362	招募中	第二阶段	30	安全性	肿瘤反应 / CAR-T 细胞数 / 血清细胞因子水平	中国
NCT03146234	完成	N/A	7	安全性	细胞持续时间	中国
NCT03130712	未知	第二阶段	10	安全性 / 不良事件	肿瘤反应 / 血清细胞因子水平	中国

注: N/A 表示无。

3.2 NK 细胞

NK 细胞是先天性淋巴样细胞 (ILC) 的一员, ILC 是前线免疫效应细胞, 对于宿主防御的早期阶段和组织稳态的维持有至关重要的作用^[30]。ILC 可以在没有抗原特异性受体的情况下发挥与 CD4⁺ 辅助细胞 (Th) 和 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞相似并互补的生物学功能^[31]。

NK 细胞可以通过血流在机体内循环, 具有强大的细胞溶解功能, 细胞表面存在着多种天然细胞毒性受体如 NKP46、KG2D、CD16 和 KIRs, 可为宿主防御微生物感染和肿瘤^[32]。研究人员探索了将 NK 细胞联合细胞因子共同作用的课题, Arulanandam 等^[33]利用生产四价多功能抗体细胞接合器的 FLEX-NKTM 平台, 构建了一个同时含有不诱导 NKp46 内化的新型人源化 NKp46 结合剂和人

源化 GPC3 结合剂的双特异性多功能抗体 CYT-303, 以介导 NK 细胞对 HCC 的定向杀伤。该研究结果显示与单特异性 GPC3 或 NKp46mAb 相比, CYT-303 的活性更高, 这也印证了 NKp46 和 GPC3 的协同作用能够产生免疫突触, 促进了 NK 细胞针对肿瘤细胞发挥功能。

白介素 -12 (IL-12) 是一类强效的促炎细胞因子, 在免疫细胞对癌细胞的反应中能够起到促进抗肿瘤反应并调节肿瘤环境的作用^[34], 然而, 全身应用 IL-12 会引起严重的毒性反应, 为了解决这一问题, Luo 等^[35]利用 synNotch 合成受体构建了能够定位 GPC3 的改造的 NK92 细胞, 改造后的 GPC3-Syn-IL-12-NK92 能够在肿瘤部位选择性分泌 IL-12, NK92 细胞相比于 T 淋巴细胞寿命较短, 因此安全性更高。在体外实验中发现将 GPC3-Syn-IL-12-

NK92 细胞配合 CAR-T 细胞与 GPC3 阳性细胞共培养时, 会产生更多的 γ 干扰素 (IFN- γ) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 异种移植瘤 NSG 小鼠治疗后 45 d 可以观察到小鼠肿瘤体积明显减小。

为了抵抗 PD-1 及其配体结合的抑制作用, Chen 等^[36] 将 PD-L1 变体 (L3C7c-Fc) 与 GPC3-CAR-NK 细胞相结合, 构建了靶向 GPC3 的 GPC3-CAR-NK 细胞, 结果显示 L3C7c-GPC3-CAR-NK 不受 PD-L1 抑制作用影响, 增强了 CAR-NK 细胞的治疗效果。

Zhao 等^[37] 通过基因工程技术构建了三个具有不同铰链和跨膜区域的 GPC3-CAR-NK 细胞, 结果显示具有 CD8 α 铰链区和 4-1BB 跨膜结构域的 GPC3-04-CAR-NK 杀瘤效率最高, 与 HepG2 细胞共培养实验也观察到培养液上清中的 IFN- γ 表达量升高, 也验证了 GPC3-04-CAR-NK 的杀伤作用。

近年来对于 NK 细胞的研究表现为能够在辅助其他治疗手段的情况下有效的减缓肿瘤的发展, 然而应用上还存在许多的弊端, 首先是寿命较短的特性, 这一特性能防止 NK 细胞在循环中存在的时间过长, 提高了安全性, 但是也冒着抗肿瘤活性作用时间短的风险, 需要找到一个适宜的用药时间。其

次 NK 细胞发挥作用是以非特异性的形式, 这使得 NK 细胞不能精准的仅作用于肿瘤组织。因此, 在临床研究中常将 NK 细胞和其他治疗手段联用达到增强临床疗效的目的, 目前的相关研究绝大部分也都报道了可喜的成果, 有望使更多的 HCC 患者从中受益。

3.3 TCR-T 细胞

近年来, 科学家围绕过继细胞疗法开发出不同的治疗手段, 其中 TCR 改造的 T 细胞在肿瘤治疗领域受到了广泛的关注。TCR 包含四个作用于连接启动信号转导的 CD3 多肽链, TCR 的功能单元是由六种蛋白组成的八聚体复合物^[38], 能够通过肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原及主要组织相容性复合体限制肽识别靶向肿瘤细胞^[39]。

通过搜索美国国立卫生院的临床试验注册中心网站发现, 目前采用 TCR 改造的 T 细胞手段治疗 HCC 的临床研究主要围绕着针对 HBV 相关 HCC 患者的 HBV-TCR 重定向 T 细胞治疗及 AFP 特异性 T 细胞受体转导 T 细胞, 截至目前相关研究约 14 项, 主要在中国、美国、新加坡开展, 绝大部分研究仍处于第一阶段, 主要验证 TCR 改造 T 细胞的安全性和耐受性, 见表 2。

表2 TCR-T细胞疗法治疗HCC的临床试验

靶靶	项目编号	状态	阶段	入组人数	主要结果指标	次要结果指标	国家
HBV	NCT03899415	招募中	第一阶段	10	不良事件 / 严重不良事件	总体缓解率 / 总体存活率	中国
HBV	NCT04745403	招募中	第一阶段	10	安全性评估 / 肿瘤微环境改变	客观缓解率 / 无进展生存期 / 总生存期	新加坡
HBV	NCT02686372	已完成	第一阶段	13	安全性	无进展生存期 / 缓解率 / 反应率	中国
HBV	NCT05339321	招募中	第一阶段	36	不良事件 / 耐受性	抗肿瘤活性 / 抗病毒活性	中国
HBV	NCT02719782	招募中	第一阶段	10	安全性	T 细胞存在时间 / 炎症细胞因子浓度	中国
AFP	NCT04368182	未知	第一阶段	3	安全性	缓解率 / 疾病控制率 / 缓解时间	中国
AFP	NCT03971747	未知	第一阶段	9	安全性	总体缓解率 / 缓解持续时间 / 无进展生存期 / 总生存期	中国
HBV	NCT05195294	未招募	第二阶段	55	不良事件 / 客观缓解率	无进展生存期 / 放射学进展时间 / 反应持续时间 / 总生存期	新加坡
HBV	NCT04677088	未知	第一阶段	7	安全性	总体反应率 / 无进展生存期 / 总生存期	中国
HBV	NCT05417932	招募中	第二阶段	46	安全性和耐受性 / 肿瘤反应	初步疗效 / 抗病毒活性 / 药效学标志物 / 病毒载体拷贝数	美国
AFP	NCT03132792	停止招募	第一阶段	45	安全性和耐受性	完全缓解或部分缓解率 / 首次反应时间 / 反应持续时间 / 缓解持续时间 / 无进展生存期 / 总生存期	美国
DR5	NCT03941626	未知	第二阶段	50	安全性	肿瘤体积变化	中国
ESO	NCT01967823	已完成	第二阶段	11	肿瘤消退率	CD3 ⁺ 细胞中 T 细胞受体百分比	美国
DR5	NCT03638206	未知	第二阶段	73	安全性	肿瘤体积的变化	中国

在我国, HBV 相关 HCC 占 HCC 病例的 75%~80%, 因此, 目前使用 HBV 特异性 TCR-T 细胞治疗 HCC 的研究较为热门^[40]。Meng 等^[41]构建了表达 HBV 的特异性 TCR T 细胞, 静脉回输治疗 8 例 HBV 相关 HCC 患者。结果显示输注后有 1 例患者短暂的出现丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶及胆红素升高, 这些现象在第二次 TCR-T 输注后约 80 d 恢复正常。经过治疗后 7 例患者循环乙型肝炎表面抗原和 HBV DNA 水平出现降低或稳定, 1 例患者肝脏肿瘤持续 27.7 个月显著缩小, 3 例患者显示出更长的疾病进展时间和生存期。研究结果证实了 HBV 特异性 TCR-T 细胞疗法是一种技术上可行且安全的治疗方法, 并且在晚期 HBV 相关 HCC 患者中具有潜在的治疗价值。此外, Morteza 等^[42]还验证了 HBV 特异性 TCR-T 细胞治疗肝移植后 HCC 复发的潜力, 为使其不受免疫抑制药物的影响, 他们通过电穿孔特定 mRNA 突变 CnB 和 IMPDH 来保持 HBV 特异性 TCR-T 细胞的多功能性, 同时减少排斥的风险。结果显示治疗后肝移植后 HCC 复发患者出现血清 AFP 水平波动并出现肿瘤消退的临床体征。体外共培养结果显示 CnB 和 IMPDH 的突变体的瞬时过表达能够有效地抵消免疫抑制药物的作用, 但是由于 mRNA 电穿孔过表达细胞的突变并不能持续突变, 因此对抑制作用的抵抗只能维持 3~5 d。Yang 等^[43]也通过 mRNA 电穿孔获得 HBV 特异性瞬时功能性 T 细胞, 在肝移植后的 HCC 复发患者临床应用中已经验证了其具有良好的耐受性。

除此之外, AFP 也是 TCR-T 细胞研究的热门靶点之一, Liu 等^[44]构建了靶向 AFP13 的 HLA-A*02 呈递肽的 TCRm, 对 6 例确诊为晚期 HCC 的患者进行细胞输注治疗, 没有观察到明显的不良事件或细胞因子释放综合征, 其中 1 例患者的原发性肿瘤和肺部转移瘤消退。

3.4 肿瘤杀伤免疫细胞

CIK 是体外扩增的异质性混合淋巴细胞群, 能够表达 CD3⁺、CD56⁺ 和 NK 细胞受体等^[45]。通过细胞因子混合物刺激单核细胞并培养 2~4 周后, 这些细胞能够扩增高达 1 000 倍, 从而轻松地获得大量的细胞用于后续的治疗。Yang 等^[46]将人类 CIK 对 J7 细胞肿瘤模型小鼠进行尾静脉注射, 结果显著抑制了肿瘤的生长。Wu 等^[47]将癌症相关抗原粘蛋白 1 (MUC1) 和 GPC-3 的抗体与识别 T 细胞的 CD3 抗体化学偶联, 形成偶联 CIK 的双特异性抗体, 将

其作用于 2 例 HCC 患者的临床治疗中, 结果显示治疗后能够维持一段时间的病情稳定, 此后通过抗 PD-1 抗体治疗获得完全缓解。这也再次印证了通过阻断 PD-1/PD-L1 通路从而阻断免疫抑制通路, 可以提高 CIK 的抗肿瘤活性^[48]。

Haber 等^[49]对经皮乙醇注射、射频消融或手术切除后的 230 例 HCC 患者使用 CIK 进行免疫治疗, 患者无复发生存期延长至 14 个月, 总生存期延长, 无额外的严重不良事件。总结治疗效果发现 CIK 治疗对于较小的肿瘤有更加突出的疗效。Ji 等^[50]也将 116 例原发性 HCC 患者分为两组, 58 例患者进行射频消融术 (RF) 和 TACE 治疗, 58 例患者在 RFA 和 TACE 治疗的基础上还进行 CIK 治疗, 治疗后 RFA-TACE-CIK 组患者体内的 CD3⁺、CD4⁺、NK 细胞水平显著升高, 平均总生存期和 5 年生存期明显长于 RFA-TACE 组患者。由于大多数癌症患者体内 T 细胞亚群功能失衡, 而 CIK 治疗能够逆转患者的这种免疫抑制状态, 联合常规治疗手段进行 CIK 治疗可增强患者的免疫功能, 对 HCC 疗效显著。

树突状细胞 (DC) 可以摄取、加工和呈递肿瘤抗原, 抑制肿瘤细胞的免疫逃逸^[51], 具有激活初始 T 细胞的能力, 能起到特异性的抗肿瘤免疫作用^[52]。大量研究证实, DC 能够增强 CIK 的活性及增殖能力, 诱导其分泌更高浓度的细胞因子如 IL-2、IFN- γ 等^[53]。随着 DC-CIK 免疫疗法机制研究的逐步开展, 在癌症过继细胞疗法中 DC-CIK 疗法也占据了一席之地, Xu 等^[54]对 36 例接受根治性切除术后的原发性 HCC 患者进行了 DC/CIK-CD24 免疫治疗, 接受 4 次治疗的患者相比于接受 2 次治疗的患者, 4 年生存率上升至 52.6%, 复发时间得到延缓, 与基线相比, 患者血清中 CD3⁺、CD4⁺、CD56⁺T 细胞有所增加, 该结果验证了 DC-CIK 疗法调节机体免疫平衡的能力, 联合手术治疗对患者的生存率能够产生显著的提升。Zhou 等^[55]将 71 例晚期 HCC 患者分为两组, 其中 35 例患者仅口服索拉非尼治疗, 36 例患者口服索拉非尼的同时进行 DC-CIK 治疗, 结果发现 DC-CIK 联合索拉非尼的患者相比于仅口服索拉非尼的患者肝功能得到有效改善, 中位生存时间由 13.8 个月上升至 18.6 个月, 治疗 6 个月的有效率由 16.7% 上升为 51.4%, 临床获益率由 41.9% 上升至 88.6%。

由于手术切除等常规手段存在复发等弊端, 也为了恢复肿瘤患者体内免疫功能, CIK 及 DC-CIK

疗法应运而生,最近的研究表明,在常规治疗手段的基础上联合使用 CIK 或 DC-CIK 治疗可以增加 T 细胞和 NK 细胞的数量,恢复机体的免疫平衡,产生大量具有抗肿瘤活性的细胞来发挥抗肿瘤作用,从而延长患者的总生存期,在肿瘤细胞治疗中发挥了协助的优势。

4 结论与展望

由于常规治疗手段效果不甚满意,免疫疗法势必成为 HCC 治疗的研究重点之一。过继细胞疗法作为一种新兴的治疗手段,逐渐成为临床研究的热点,然而作为一种发展中的治疗手段,过继细胞疗法治疗 HCC 的临床研究绝大部分还处于第一阶段,少数处于第二阶段。关注的主要结果指标聚焦于不良事件和安全性。过继细胞疗法存在的弊端是,其对不表达特异性靶点的一部分肿瘤细胞作用不大,同时还存在肿瘤细胞通过不表达特异性靶点来逃避药物作用的情况,这就造成了治疗的不彻底并留下了隐患。为了弥补这一弊端,接下来的研究应该发展多抗原靶点免疫疗法,以及免疫疗法配合常规疗法,以针对肿瘤组织中不表达特异性靶点的那一部分肿瘤细胞或抗原逃逸现象。同时,复杂的肿瘤微环境及器官移植患者免疫抑制药物的使用都会影响过继细胞疗法的疗效,针对这些问题,还需要进一步的研究。例如 PD-1 与配体的结合会抑制免疫细胞的活化,为防止这一现象,大量阻断 PD-1 及其配体通路的研究正在开展,值得加以注意。

参考文献

- [1] LLOVET J M, ROSSI J Z, PIKARSKY E, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Dis Prim*, 2016, 2: 16018.
- [2] OGEL A, MEYER T, SAPISOCHIN G, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2022, 400 (10360): 1345-1362.
- [3] TZARTZEVA K, OBI J, RICH N E, et al. Surveillance imaging and alpha fetoprotein for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a meta-analysis[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154: 1706-1718.
- [4] ITO T, NGUYEN M H. Perspectives on the underlying etiology of HCC and its effects on treatment outcomes[J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2023, 10: 413-428.
- [5] YANG Y Q, WEN Z Y, LIU X Y, et al. Current status and prospect of treatments for recurrent hepatocellular carcinoma[J]. *World J Hepatol*, 2023, 15 (2): 129-150.
- [6] MOSENTA M, BUSATO D, BO M D, et al. Novel nanotechnology approaches to overcome drug resistance in the treatment of hepatocellular carcinoma: glypican 3 as a useful target for innovative therapies[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (17): 10038.
- [7] MURCIANO-GOROFF Y R, WARNER A B, WOLCHOK J D, et al. The future of cancer immunotherapy: microenvironment-targeting combinations[J]. *Cell Res*, 2020, 30 (6): 507-519.
- [8] KUBES P, JENNE C. Immune responses in the liver[J]. *Rev Immunol*, 2018, 36: 247-277.
- [9] SHI J H, LI G Y, LIU L L, et al. Establishment and validation of exhausted CD8⁺ T cell feature as a prognostic model of HCC[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1166052.
- [10] LI N, SPETZ M R, HO M. The role of glypicans in cancer progression and therapy[J]. *J Histochem Cytochem*, 2020, 68 (12): 841-862.
- [11] AKKERMANS O, BOURGEOIS C D, PEREGRINA C. GPC3-Unc5 receptor complex structure and role in cell migration[J]. *Cell*, 2022, 185 (21): 3931-3949.
- [12] NING J, JIANG S, LI X, et al. GPC3 affects the prognosis of lung adenocarcinoma and lung squamous cell carcinoma[J]. *BMC Pulm Med*, 2021, 21: 199.
- [13] YAO M, WANG L, FANG M, et al. Advances in the study of oncofetal antigen glypican-3 expression in HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. *Biosci Trends*, 2016, 10: 337-343.
- [14] CIEMNY J G, SZYMANSKI M, KUSZERSKA A, et al. The role of alpha-fetoprotein (AFP) in contemporary oncology: the path from a diagnostic biomarker to an anticancer drug[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (3): 2539.
- [15] ÖZDEMİR F, BASKIRAN A. The importance of AFP in liver transplantation for HCC[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2020, 51: 1127-1132.
- [16] KOLLURI A, HO M. The role of glypican-3 in regulating Wnt, YAP, and hedgehog in liver cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 708.
- [17] WAGHMARE I, McCAW A P. Regulation of Wnt distribution and function by Drosophila glypicans[J]. *J Cell Sci*, 2022, 135 (3): jcs259405.
- [18] ZHANG L B, ADU I K, ZHANG H F, et al. The WNT/ β -catenin system in chronic kidney disease-mineral bone disorder syndrome[J]. *Int Urol Nephrol*, 2023, 5 (10): 2527-2538.
- [19] CHOW K M, YAU W L, NG L. Novel molecular targets in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Clin Oncol*, 2020, 11 (8): 589-605.
- [20] WU A, TURNER K A, WOOLFSON A, et al. The hedgehog pathway as a therapeutic target in chronic myeloid leukemia[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15 (3): 958.
- [21] FLEMING B D, HO M. Development of Glypican-3 targeting immunotoxins for the treatment of liver cancer: an update[J]. *Biomolecules*, 2020, 10 (6): 934.

- [22] LI X H, ZHOU J, ZHANG W W, et al. Pan-cancer analysis identifies tumor cell surface targets for CAR-T cell therapies and antibody drug conjugates[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14 (22): 5674.
- [23] LI D, LI N, ZHANG Y F, et al. Persistent polyfunctional chimeric antigen receptor T cells that target glypican 3 eliminate orthotopic hepatocellular carcinomas in mice[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158 (8): 2250-2265.
- [24] SHI D H, SHI Y P, KASEB A O, et al. Chimeric antigen receptor-glypican-3 T-cell therapy for advanced hepatocellular carcinoma: results of phase I trials[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26 (15): 3979-3989.
- [25] SUN H W, XING C Y, JIANG S F, et al. Long term complete response of advanced hepatocellular carcinoma to glypican-3 specific chimeric antigen receptor T-cells plus sorafenib, a case report[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 963031.
- [26] CAO G Z, ZHANG G Z, LIU M X, et al. GPC3-targeted CAR-T cells secreting B7H3-targeted BiTE exhibit potent cytotoxicity activity against hepatocellular carcinoma cell in the in vitro assay[J]. *Biochem Biophys Rep*, 2022, 31: 101324.
- [27] LEMOINE J, RUELLA M, HOUOT R, et al. Born to survive: how cancer cells resist CAR T cell therapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14: 199.
- [28] LI D Z, QIN J, ZHOU T, et al. Bispecific GPC3/PD-1 CAR-T cells for the treatment of HCC[J]. *Int J Oncol*, 2023, 62 (4): 53.
- [29] LI D, ENGLISH H J, HONG J. A novel PD-L1-targeted shark VNAR single-domain-based CAR-T cell strategy for treating breast cancer and liver cancer[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2022, 24: 849-863.
- [30] MARIOTTI F R, SUPINO D, LANDOLINA N, et al. IL-1R8: a molecular brake of anti-tumor and anti-viral activity of NK cells and ILC[J]. *Semin Immunol*, 2023, 66: 101712.
- [31] VIVIER E, ARTIS D, COLONNA M, et al. Innate lymphoid cells: 10 years on[J]. *Cell*, 2018, 174: 1054-1066.
- [32] SABETKAM S, KALARESTAGHI H, MAZLOUMI Z, et al. The dysfunction of natural killer cells is essential for the development of type 1 diabetes[J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 247: 154556.
- [33] ARULANANDAM A, LIN L, CHANG H M, et al. Derivation and preclinical characterization of CYT-303, a novel Nkp46-NK Cell Engager Targeting GPC3[J]. *Cells*, 2023, 12 (7): 996.
- [34] TRINCHIERI G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3: 133-146.
- [35] LUO H, WU X Q, SUN R X, et al. Target-dependent expression of IL12 by synNotch receptor-engineered NK92 cells increases the antitumor activities of CAR-T cells[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1448.
- [36] CHEN L, LIU S Y, ADAH D. Soluble programmed death ligand-1-induced immunosuppressive effects on chimeric antigen receptor-natural killer cells targeting Glypican-3 in hepatocellular carcinoma[J]. *Immunology*, 2023, 169 (2): 204-218.
- [37] ZHAO J F, LIN L J, LUO Y H, et al. Optimization of GPC3-specific chimeric antigen receptor structure and its effect on killing hepatocellular carcinoma cells[J]. *Bioengineered*, 2021, 12 (1): 3674-3683.
- [38] CHEN C, LIU X, CHANG C Y, et al. The interplay between T cells and cancer: the basis of immunotherapy[J]. *Genes (Basel)*, 2023, 14 (5): 1008.
- [39] MANFREDI F, CIANCIOTTI B C, POTENZA A, et al. TCR redirected T cells for cancer treatment: achievements, hurdles, and goals[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1689.
- [40] KULIK L, EL-SERAG H B. Epidemiology and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156: 477-491.
- [41] MENG F P, ZHAO J F, TAN A T, et al. Immunotherapy of HBV-related advanced hepatocellular carcinoma with short-term HBV-specific TCR expressed T cells: results of dose escalation, phase I trial[J]. *Hepato Int*, 2021, 15 (6): 1402-1412.
- [42] MORTEZA H, MEIYIN L, ADELIN C, et al. Immunosuppressive drug-resistant armored T-cell receptor T cells for immune therapy of HCC in liver transplant patients[J]. *Hepatology*, 2021, 74 (1): 200-213.
- [43] YANG F, ZHENG X F, KOH S, et al. Messenger RNA electroporated hepatitis B virus (HBV) antigen-specific T cell receptor (TCR) redirected T cell therapy is well-tolerated in patients with recurrent HBV-related hepatocellular carcinoma post-liver transplantation: results from a phase I trial[J]. *Hepato Int*, 2023, 17 (4): 850-859.
- [44] LIU C, LIU H, DASGUPTA M, et al. Validation and promise of a TCR mimic antibody for cancer immunotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1): 12068.
- [45] SCHMIDT-WOLF I G, LEFTEROVA P, JOHNSTON V, et al. Propagation of large numbers of T cells with natural killer cell markers[J]. *British Journal of Haematology*, 1994, 87 (3): 453-458.
- [46] YANG C K, HUANG C H, HU C H, et al. Immunophenotype and antitumor activity of cytokine-induced killer cells from patients with hepatocellular carcinoma[J]. *PLoS One*, 2023, 18 (1): e0280023. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36598909/>.
- [47] WU T, ZHANG L Z, ZENG Z, et al. Complete response to PD-1 inhibitor in primary hepatocellular carcinoma patients post-progression on Bi-specific antibody conjugated CIK cell treatment: a report of two cases[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 5447-5453.
- [48] DAI C, LIN F, GENG R, et al. Implication of combined

超声在肱骨外上髁炎诊治中的应用

周生伟^① 杨智^①

【摘要】 肱骨外上髁炎是较为常见的肌腱病变，目前临床诊断主观性强易造成误诊，因此探索一种实时且高效的检查方法显得尤为重要。随着超声医学发展，各种超声检查技术的研发与应用使得超声在肌骨疾病的诊断与治疗中有着极大优势。肘关节解剖结构复杂、周围血管及神经的存在，使得超声在肱骨外上髁炎诊断及治疗方面发展迅速。以此，本文将从超声在肱骨外上髁炎诊断及治疗方面的应用现状进行综述。

【关键词】 肱骨外上髁炎 二维超声 彩色多普勒超声 弹性成像

Application of Ultrasound in the Diagnosis and Treatment of Lateral Epicondylitis/ZHOU Shengwei, YANG Zhi. //Medical Innovation of China, 2024, 21(09): 180-184

【Abstract】 Lateral epicondylitis is a common tendon disease. At present, the subjective clinical diagnosis is easy to cause misdiagnosis, so it is particularly important to explore a real-time and efficient examination method. With the development of ultrasonic medicine and the development and application of various ultrasonic techniques, ultrasound has great advantages in the diagnosis and treatment of musculoskeletal diseases. The complex anatomical structure of elbow joint and the existence of peripheral blood vessels and nerves make ultrasound develop rapidly in the diagnosis and treatment of lateral epicondylitis. With this in mind, this article will review the current status of ultrasound applications in the diagnosis and treatment of lateral epicondylitis of the humerus.

【Key words】 Lateral epicondylitis Two-dimensional ultrasound Color Doppler ultrasound Elastography

First-author's address: Ultrasound Medicine Department, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256600, China

doi: 10.3969/j.issn.1674-4985.2024.09.040

①滨州医学院附属医院超声医学科 山东 滨州 256600

通信作者: 杨智

- PD-L1/PD-1 blockade with cytokine-induced killer cells as a synergistic immunotherapy for gastrointestinal cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (9): 10332-10344.
- [49] HABER P K, PUIGVEHÍ M, CASTET FLORIAN. Evidence-based management of hepatocellular carcinoma: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials (2002-2020)[J]. *Gastroenterology*, 2021, 161 (3): 879-898.
- [50] JI Q, FU Y D, ZHU X W, et al. Effect of RFA and TACE combined with postoperative cytokine-induced killer cell immunotherapy in primary hepatocellular carcinoma[J]. *J BUON*, 2021, 26 (1): 235-242.
- [51] LU D, LI T, YANG Z Q, et al. DC-CIK combined with chemotherapy on the efficacy, immune function, and life quality in colorectal cancer patients after radical resection[J]. *Am J Transl Res*, 2023, 15 (4): 2793-2801.
- [52] BRYANT C E, SUTHERLAND S, KONG B, et al. Dendritic cells as cancer therapeutics[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 86: 77-88.
- [53] DONG M, ZHANG G Z, MENG J, et al. MMP9-associated tumor stem cells, CCL1-silenced dendritic cells, and cytokine-induced killer cells have a remarkable therapeutic efficacy for acute myeloid leukemia by activating T cells[J]. *Stem Cells Int*, 2023, 2023: 2490943.
- [54] XU K Y, MENG Z J, MU X X, et al. One single site clinical study: to evaluate the safety and efficacy of immunotherapy with autologous dendritic cells, cytokine-induced killer cells in primary hepatocellular carcinoma patients[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 581270.
- [55] ZHOU Z, QIN H, WENG L X, et al. Clinical efficacy of DC-CIK combined with sorafenib in the treatment of advanced hepatocellular carcinoma[J]. *J BUON*, 2019, 24 (2): 615-621.

(收稿日期: 2023-08-04) (本文编辑: 陈韵)