



嵌合抗原受体巨噬细胞免疫疗法及其在 实体瘤治疗中的应用*

杨 艳¹⁾ 甘妮翠^{1,2)} 彭宁馨¹⁾ 张岚莹¹⁾ 张继虹¹⁾ 李锦媛^{1,2)**}

(¹⁾ 昆明理工大学医学院, 昆明 650500; (²⁾ 云南省第一人民医院普外一科, 昆明 650032)

摘要 嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)疗法在血液肿瘤中取得了显著成功,但在实体瘤的治疗中收效甚微。相比之下,固有免疫细胞在癌症中的临床应用还没有得到广泛开发。巨噬细胞是肿瘤微环境中主要的固有免疫细胞并具有较强的吞噬和浸润能力,最近研究发现嵌合抗原受体巨噬细胞(chimeric antigen receptor macrophage, CAR-M)免疫疗法在多种实体瘤中发挥重要的抗肿瘤效应。本文总结了近年来CAR-M治疗肿瘤的相关研究,旨在探究其对实体瘤的潜在治疗价值,为其未来的临床应用提供参考。

关键词 嵌合抗原受体, 巨噬细胞, 实体瘤

中图分类号 R73-36+2, R392.12

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0426

随着肿瘤免疫疗法研究的逐渐深入,以过继性嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)免疫疗法、免疫检查点抑制剂为代表的多种免疫治疗策略相继被开发并进入临床应用^[1]。然而当前的免疫疗法主要针对适应性免疫,CAR-T在实体瘤中浸润不足,疗效并不理想^[2-3]。与此同时,研究发现先天免疫细胞也确实具有发挥抗肿瘤活性的潜力^[4]。巨噬细胞是实体肿瘤微环境中主要的免疫浸润细胞,可吞噬肿瘤细胞,并将肿瘤抗原呈递给T细胞进而启动肿瘤特异性免疫应答^[5-6]。因此,改造巨噬细胞成为嵌合抗原受体巨噬细胞(chimeric antigen receptor macrophage, CAR-M)代表了一种新型抗肿瘤固有免疫疗法,可与放疗或者针对适应性免疫的治疗方法协同作用,发挥更强劲的抗肿瘤免疫作用。本文主要介绍CAR-M的发展历程、结构设计和临床试验相关研究进展,以期为其未来的临床应用提供参考。

1 嵌合抗原受体(CAR)修饰的免疫细胞用于肿瘤免疫治疗

21世纪初,靶向T细胞活化的相关免疫疗法就已启动,CAR-T细胞是通过基因工程技术制备的

抗原受体T细胞,可与肿瘤细胞表面的抗原特异性结合,具有效应性T细胞的T细胞受体(T cell receptor, TCR)特异性和非主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性抗肿瘤活性的特点。CAR的主要结构涉及识别抗原的单链抗体可变区片段(single chain antibody variable fragments, scFvs)、跨膜区、TCR β 链CD3 ζ (T细胞活化第一信号)和协同刺激信号结构域(T细胞活化第二信号)(图1)^[7-8]。虽然CAR-T细胞治疗血液肿瘤的临床效果良好,但由于实体肿瘤细胞中抗原缺失、缺乏特异抗原以及免疫抑制肿瘤微环境等原因,其对实体瘤的治疗效果并不理想。同时在临床上还发现,CAR-T细胞疗法会产生细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、神经方面的相关不良反应^[3]。由此在完善CAR-T免疫疗法的同时,拓宽CAR策

* 云南省卫生健康委员会医学后备人才培养计划(H-2019037),云南省第一人民医院博士科研基金(KHBS-2020-022),云南省基础研究计划(2019FD015)和昆医联合专项(2019FE001-310)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 13529132284, E-mail: jinyuan120@126.com

收稿日期: 2022-09-06, 接受日期: 2022-10-28

略也非常必要。目前CAR策略已经用于修饰自然杀伤细胞 (natural killer, NK)、 $\gamma\delta$ T细胞 (gamma-delta T cells, $\gamma\delta$ T)、自然杀伤性T细胞 (natural killer T cells, NKT)、调节性T细胞 (regulatory T cells, Treg) 等免疫细胞, 研究表明通过对以上免疫细胞进行CAR修饰对肿瘤免疫治疗具有积极作用^[9-13]。

肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 由多种细胞、细胞因子、酶类以及胞外基质共同组成^[14]。大量活化的巨噬细胞浸润肿瘤间质, 被称为肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM), 在大多数实体肿瘤的TME中占比达50%^[15-16]。除此之外, 巨噬细胞还能够分泌基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP), 从而破坏肿瘤细胞外基质层进入到肿瘤内部发挥作用^[17-18]。巨噬细胞的这一特质推动了利用巨噬细胞治疗肿瘤的研究。然而研究人员发现, 直接进行巨噬细胞移植治疗效果甚微^[19-21]。其主要问题在于, TME能够诱导巨噬细胞分化为替代活化型 (M2表型), M2型巨噬细胞能够通过分泌多种活性物质促进血管生成、肿瘤细胞增殖、转移、免疫抑制、免疫逃逸和耐药性等^[22-23]。研究证明, 被极化为M2表型的巨噬细胞可以在一定程度上逆转为M1表型^[24]。M1型巨噬细胞高表达炎症细胞因子,

具有较强的抗微生物和抗肿瘤活性。由此, 逆转M2表型在肿瘤治疗中具有重要意义。同时, 研究发现TME中的巨噬细胞需要额外的信号来引导其对抗肿瘤^[25]。研究人员从CAR-T的成功中获得启示, 通过转基因手段促使巨噬细胞表达靶向特定肿瘤抗原的CAR转变为CAR-M, 从而增强或激活其对目标肿瘤细胞的吞噬杀伤作用^[26]。由于巨噬细胞在TME中大量存在, 且能够进入肿瘤内部发挥作用, 因此CAR-M也成为针对实体肿瘤最有希望的临床免疫疗法之一。

2 CAR-M的设计与应用

最初, CAR的原始结构是为T细胞设计的, 没有专门为巨噬细胞设计的CAR结构。CAR-M结构参照CAR-T进行设计, 主要由识别特定肿瘤抗原的细胞外信号域、跨膜区域和细胞内结构域组成 (图1)。后续在CAR-NK相关研究中发现, CAR结合表位的位置及其与细胞表面的距离可影响抗原结合和细胞活化^[27]。第一代CAR-M主要对CAR的细胞外结构域进行改造, 以靶向特定的抗原来识别和吞噬肿瘤细胞。目前, 通过对细胞外信号域的研究, 确定了几种常见的肿瘤靶点, 如CD19、CD22、HER2等^[28]。

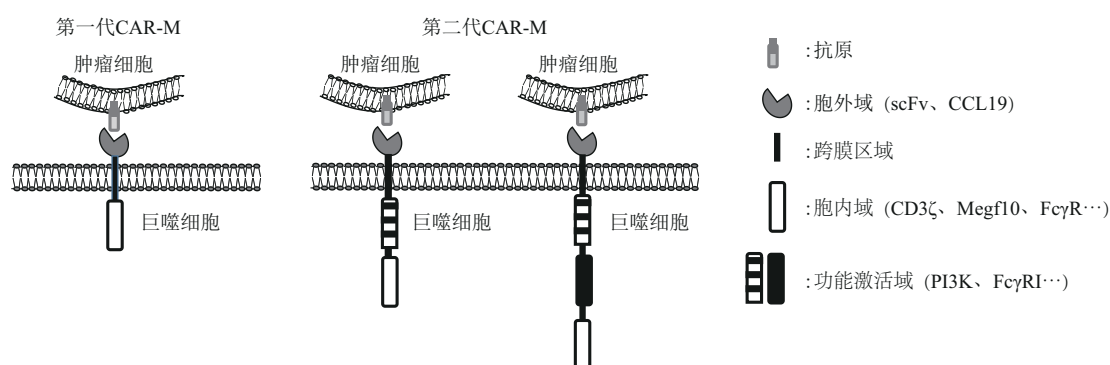


Fig. 1 Structure display of CAR-M

图1 CAR-M结构示意图

目前, 第二代的CAR-M正在开发中, 除了保持第一代CAR-M技术的特点外, 研究人员希望可以通过在CAR结构中添加一个胞内结构域来实现肿瘤相关抗原呈递和T细胞活化等目标。加利福尼亚大学的Morrissey团队^[26]制备了一种名为嵌合抗原吞噬受体 (chimeric antigen receptors for phagocytosis, CAR-P) 的新型CARs, 并将其引入

巨噬细胞中。该团队从已知的小鼠吞噬受体库中筛选出Megf10、FcγR作为细胞内结构域以促进巨噬细胞的吞噬作用。后续实验证实, 携带Megf10 (CAR-PMegf10) 或FcRV (CAR-PFcγR) 细胞内结构域的CAR-P转染巨噬细胞后其对CD19的吞噬作用显著增强。这说明CAR-PMegf10或CAR-PFcγR结构域可促进巨噬细胞对特定配体靶标的吞

噬作用。已有研究表明, PI3K 信号通路对于大靶点的内化非常重要^[29]。由此, 该团队在 CAR-PMegf10 的结构基础上串联 PI3K 招募域, 发现 PI3K 招募域的加入进一步增强 CAR-M 对癌细胞的吞噬。上述研究表明, 将各类促吞噬效应因子的活化基序串联至 CAR 胞内结构域可促进 CAR-M 的吞噬活性和抗肿瘤效应。这可以作为一种应用于临床治疗癌症的思路, 但这种策略需要对 CAR-P 受体本身进行更多优化, 技术和成本方面依然面临较大的挑战。

为了使 CAR-M 获得更广谱的抗癌功效, 除了 CAR-M 的结构, CAR 基因的转染方法也需要考虑。在过去的 CAR 转染策略中, 多以慢病毒作为载体对体内免疫细胞进行基因编辑, 但其是否可以安全地用于临床治疗一直饱受争议^[30]。为了更高效地转染原始人类巨噬细胞, 宾夕法尼亚大学的 Klichinsky 团队^[31]设计了一种复制缺陷型嵌合腺病毒载体 (Ad5f35), 并将抗 HER2 的 CAR 克隆到

Ad5f35 载体中, 实验证明 HER2-CAR-Ad5f35 转染的人巨噬细胞高效表达了 HER2-CAR, 多呈现经典激活途径的 M1 型。同时腺病毒转染不影响巨噬细胞表面趋化因子受体的表达和迁移能力。为突破限制 CAR-M 体外大规模生产的技术瓶颈、高额费用和病毒载体修饰体内巨噬细胞导致的致癌可能性。Kang 等^[32]利用非病毒载体, 对 TME 中的巨噬细胞进行体内修饰以治疗实体肿瘤。该团队首先将 CAR- γ 干扰素 (IFN- γ) 抗 ALK 基因克隆到非病毒载体 piggyBac 转座子中, 得到 CAR-IFN- γ 载体 (CAR-IFN- γ pDNA)。随后利用一种 22 ku 大小且带正电荷的转染试剂 PEI 的衍生物——jetPEI-macrophage (MPEI) 与带负电荷的 CAR-IFN- γ pDNA 通过静电作用形成纳米复合物 MPEI/pCAR-IFN- γ , 该复合物对人巨噬细胞的平均转染效率为 14%。对比病毒载体而言, MPEI/pCAR-IFN- γ 转染复合物更加简单实惠, 但仍需进一步提高其转染率 (表 1)。

Table 1 Characteristics of different transfection vectors for CAR-M

表1 CAR-M不同转染载体的特点

载体		来源	缺点	优点
病毒载体	慢病毒载体	逆转录病毒, 多来自灵长类宿主	仅感染非分裂期细胞 病毒基因整合到宿主内 外源片段容量小 有致癌风险	构建简单 细胞转染广谱性 性价比高
	腺病毒载体	线性双链DNA病毒, 多来自禽类	构建复杂 尚处于技术初期	病毒基因不整合到宿主内 天然安全性 转染效率高
非病毒载体	纳米颗粒载体	人工合成	转染效率低	技术简单 费用低 安全系数高

3 CAR-M的抗肿瘤效应

目前, CAR-M 研究的重点是通过引入各类胞内致敏结构域激活和增强巨噬细胞的吞噬作用, 以促进 CAR-M 发挥抗肿瘤作用 (表 2)。

加利福尼亚大学的 Morrissey 团队^[26]制备的 CAR-P 巨噬细胞与人 Burkitt’s 淋巴瘤细胞 Raji B 共培养 44 h 后, 发现 CAR-P 巨噬细胞的加入显著减少了 Raji B 细胞的数量。但该研究没有进一步探究 Raji B 细胞的减少主要是由巨噬细胞的吞噬效应介导还是巨噬细胞诱导的肿瘤细胞自噬性死亡。总的来说, CAR-P 是一种成功的策略, 可以引导巨噬

细胞作用于肿瘤靶细胞, 并可以启动细胞吞噬和自噬作用, 从而清除肿瘤细胞。

浙江大学张进团队^[33]从健康供者的外周血中分离得到诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs), 将促进 M1 型极化的 CARs 稳定转染到 iPSCs 中, 继而诱导其分化为 M1-CAR-iMacs。体外肿瘤细胞杀伤实验进一步证实 M1-CAR-iMacs 的抗肿瘤作用及抗原依赖性的 M1 极化能力。在荷瘤 NSG 小鼠模型中, CAR-iMac 细胞在体内可以持续存活 20 d 以上, 30 d 后逐渐消失。特异靶向肿瘤间皮素的 CAR(meso)-iMac 处理荷瘤小鼠后第 4、11 和 14 天肿瘤负担持续减轻, 这说明

CAR(meso)-iMac在体内具有抗癌细胞活性,但是需要进一步改进CAR-iMac以维持其活性。

南京大学沈萍萍研究团队^[34]设计了一种靶向肿瘤细胞外基质的嵌合抗原受体巨噬细胞(CAR-147),CAR-147可特异性识别抗原HER2,并有效激活巨噬细胞中MMP的表达。CAR-147巨噬细胞在体外并不抑制肿瘤细胞的生长,而在体内抑制肿瘤生长。体内实验中CAR-147巨噬细胞可降解肿瘤周围致密的胶原基质,抑制肿瘤转移,促进肿瘤模型中T细胞的浸润。同时,CAR-147巨噬细胞显著增加肿瘤组织中细胞因子IL-12和IFN- γ 的表达水平。

宾夕法尼亚大学的Klichinsky团队^[31]将特异性识别HER2的CAR克隆到Ad5f35载体中,转染巨噬细胞得到HER2-CAR-Ms。体外实验证明,HER2-CAR-Ms对HER2阳性微珠和肿瘤细胞具有特异性吞噬作用,而且其对肿瘤的吞噬和杀伤水平

与CAR的表达水平直接相关。小鼠体内实验显示,接受HER2-CAR-Ms治疗的小鼠生存期延长、肿瘤转移率降低。CAR-M在无瘤NSGS小鼠体内存在至少62 d。且CAR-Ms在人TME中维持着一种促炎表型,可调控周围免疫细胞。除了直接抗肿瘤,HER2-CAR-Ms还可交叉提呈抗原和激活T细胞。这也证实了CAR-Ms直接减轻肿瘤负担、塑造TME和产生疫苗效应。该团队正在开展首次CAR-M的人类临床试验。

韩国首尔国立大学的Kang团队^[32]使用纳米颗粒载体,将编码CAR和IFN- γ 的基因转染巨噬细胞得到MPEI/pCAR-IFN- γ 。脑神经瘤(Neuro-2a)荷瘤小鼠瘤内注射MPEI/pCAR-IFN- γ 后生存期显著延长,且治疗期间小鼠平均体重未出现明显变化,提示MPEI/pCAR-IFN- γ 治疗可以抑制肿瘤生长且副作用轻微。

Table 2 The anti-tumor effect of CAR-M

表2 CAR-M抗肿瘤研究进展

研究团队	靶点	靶细胞来源	胞内域	载体	主要研究进展
Morrissey	CD19、CD22	J774A.1巨噬细胞	Megf10、Fc γ R、CD3 ζ 、Fc γ R + PI3K	慢病毒	CAR-P表达的小鼠巨噬细胞在共培养中减少了40%以上的癌细胞数量
张进	CD19	iPSCs	CD86 + Fc γ RI	慢病毒	CAR-iMac细胞在体外和体内表现出抗原依赖的吞噬和抗癌细胞功能 CAR-iMac处理的小鼠肿瘤负荷减轻,体内留存30 d内
沈萍萍	HER2	Raw264.7巨噬细胞	CD147	慢病毒	CAR-147巨噬细胞在体外并不抑制肿瘤细胞的生长,而在体内抑制肿瘤生长 CAR-147巨噬细胞显著抑制4T1乳腺癌小鼠模型中的肿瘤生长,且未发现细胞因子释放综合征
Klichinsky	HER2	THP-1	CD3 ζ	腺病毒 Ad5f35	Ad5f35转导的人巨噬细胞高效表达了CAR 腺病毒转导的巨噬细胞多为经典激活途径的M1型 采用抗HER2 CAR-Ms治疗的小鼠其生存期延长、肿瘤转移压力降低 CAR-Ms在人TME中维持着一种促炎表型,对周围的免疫细胞发挥主导作用
Kang	ALK	骨髓衍生巨噬细胞 (bone marrow derived macrophages, BMDMs) Raw264.7巨噬细胞	CD28, CD3 ζ	纳米载体	向脑神经瘤(Neuro-2a)小鼠注射MPEI/pCAR-IFN- γ 后会延长其生存期,且治疗期间小鼠平均体重未出现明显变化

4 总 结

2021年9月,美国食品和药物管理局(FDA)给Klichinsky团队设计的CAR-M(CT-0508)开通

快速审批通道,表明了对基于CAR设计的肿瘤免疫疗法的迫切需求^[31]。尽管各种CAR-M设计的肿瘤免疫疗法在动物实验中的表现优良,但仍有许多问题需要解决。首先,体外改造后的巨噬细胞注射

进入机体后不会增殖, 不仅细胞耗费较大, 而且疗效也因此受限。其次, 转染CAR进入巨噬细胞的方法, 也存在较多的技术限制, 如载体的选择和长期安全性^[35]。虽然表达CARs的病毒载体可以大量生产, 并可在-80℃下保存约9年, 但是载体的安全性、无菌性、效价、纯度至关重要^[36-38]。另外, 病毒载体的DNA通过插入突变整合到宿主细胞也是一个令人担忧的问题, 目前开发的病毒载体较之前载体大大降低了突变的风险。然而, 慢病毒和逆转录病毒载体都有潜在的致癌作用。非病毒载体不存在细胞毒性, 但其最小有效剂量需要后续的临床研究证实^[32]。更关键的是其转染率较低, 在未来仍需攻克这一难题。同时, TME组成呈现复杂性和异质性, 当前的CAR-M产品在动物模型中得到良好的效果, 但对于人的临床效果未知^[39]。根据以往CAR设计的经验, 靶抗原的暴露不够充分可能导致CAR-M的治疗效果不如预期^[28]。最后, 巨噬细胞在体内的迁移特性也可能导致CAR-M策略治疗效果的不佳^[40]。外源性的巨噬细胞一般先通过肺, 再在肝脏中富集^[41]。过去的CAR相关免疫治疗也表明, 大多数靶向肿瘤抗原的免疫细胞倾向于在健康组织中集聚, 导致潜在的脱靶毒性, 导致功效受限, 甚者产生毒性伤害机体^[42-45]。在未来的临床治疗中, 应最大限度地提高CAR-M的有效性和安全性。

参 考 文 献

- [1] Abbott M, Ustoyev Y. Cancer and the immune system: the history and background of immunotherapy. *Semin Oncol Nurs*, 2019, **35**(5):150923
- [2] Zhang C, Liu J, Zhong J F, *et al.* Engineering CAR-T cells. *Biomark Res*, 2017, **5**: 22
- [3] Fesnak A D, June C H, Levine B L. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2016, **16**(9): 566-581
- [4] Baxter D. Active and passive immunization for cancer. *Hum Vaccin Immunother*, 2014, **10**(7): 2123-2129
- [5] Ngambenjawong C, Gustafson H H, Pun S H. Progress in tumor-associated macrophage (TAM) -targeted therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, **114**: 206-221
- [6] Anderson N R, Minutolo N G, Gill S, *et al.* Macrophage-based approaches for cancer immunotherapy. *Cancer Res*, 2021, **81**(5): 1201-1208
- [7] Perez C, Gruber I, Arber C. Off-the-shelf allogeneic T cell therapies for cancer: opportunities and challenges using naturally occurring "universal" donor T cells. *Front Immunol*, 2020, **11**: 16
- [8] Sadelain M, Brentjens R, Riviere I. The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Discov*, 2013, **3**(4): 388-398
- [9] Mackay M, Afshinnekoo E, Rub J, *et al.* The therapeutic landscape for cells engineered with chimeric antigen receptors. *Nat Biotechnol*, 2020, **38**(2): 233-244
- [10] Rotolo A, Caputo V S, Holubova M, *et al.* Enhanced anti-lymphoma activity of CAR19-iNKT cells underpinned by dual CD19 and CD1d targeting. *Cancer Cell*, 2018, **34**(4): 596-610
- [11] Rischer M, Pscherer S, Duwe S, *et al.* Human gamma delta T cells as mediators of chimaeric-receptor redirected anti-tumour immunity. *Br J Haematol*, 2004, **126**(4): 583-592
- [12] Sicard A, Lamarche C, Speck M, *et al.* Donor-specific chimeric antigen receptor Tregs limit rejection in naive but not sensitized allograft recipients. *Am J Transplant*, 2020, **20**(6): 1562-1573
- [13] Koristka S, Kegler A, Bergmann R, *et al.* Engrafting human regulatory T cells with a flexible modular chimeric antigen receptor technology. *J Autoimmun*, 2018, **90**: 116-131
- [14] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, **144**(5): 646-674
- [15] Chen D S, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*, 2013, **39**(1): 1-10
- [16] Fu L Q, Du W L, Cai M H, *et al.* The roles of tumor-associated macrophages in tumor angiogenesis and metastasis. *Cell Immunol*, 2020, **353**: 7
- [17] Sternlicht M D, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001, **17**: 463-516
- [18] Wynn T A, Vannella K M. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity*, 2016, **44**(3): 450-462
- [19] Andreesen R, Hennemann B, Krause S W. Adoptive immunotherapy of cancer using monocyte-derived macrophages: rationale, current status, and perspectives. *J Leukoc Biol*, 1998, **64**(4): 419-426
- [20] Thiounn N, Pages F, Mejean A, *et al.* Adoptive immunotherapy for superficial bladder cancer with autologous macrophage activated killer cells. *J Urol*, 2002, **168**(6): 2373-2376
- [21] Burger M, Thiounn N, Denzinger S, *et al.* The application of adjuvant autologous intravesical macrophage cell therapy vs. BCG in non-muscle invasive bladder cancer: a multicenter, randomized trial. *J Transl Med*, 2010, **8**: 6
- [22] Mills C D. Anatomy of a discovery: M1 and M2 macrophages. *Front Immunol*, 2015, **6**: 12
- [23] Myers K V, Amend S R, Pienta K J. Targeting Tyro3, Axl and MerTK (TAM receptors): implications for macrophages in the tumor microenvironment. *Mol Cancer*, 2019, **18**: 14
- [24] Cooks T, Pateras I S, Jenkins L M, *et al.* Mutant p53 cancers reprogram macrophages to tumor supporting macrophages via exosomal miR-1246. *Nat Commun*, 2018, **9**: 15
- [25] Cassetta L, Kitamura T. Macrophage targeting: opening new possibilities for cancer immunotherapy. *Immunology*, 2018, **155**(3): 285-293
- [26] Morrissey M A, Williamson A P, Steinbach A M, *et al.* Chimeric antigen receptors that trigger phagocytosis. *Elife*, 2018, **7**: 21

- [27] Daher M, Rezvani K. Outlook for new CAR-based therapies with a focus on CAR NK cells: what lies beyond CAR-engineered T cells in the race against cancer. *Cancer Discov*, 2021, **11**(1): 45-58
- [28] Chen S Q, Lai S W T, Brown C E, *et al.* Harnessing and enhancing macrophage phagocytosis for cancer therapy. *Front Immunol*, 2021, **12**: 16
- [29] Schlam D, Bagshaw R D, Freeman S A, *et al.* Phosphoinositide 3-kinase enables phagocytosis of large particles by terminating actin assembly through Rac/Cdc42 GTPase-activating proteins. *Nat Commun*, 2015, **6**: 12
- [30] Ferreira M V, Cabral E T, Coroadinha A S. Progress and perspectives in the development of lentiviral vector producer cells. *Biotechnol J*, 2021, **16**(1): 12
- [31] Klichinsky M, Ruella M, Shestova O, *et al.* Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy. *Nat Biotechnol*, 2020, **38**(8): 947-953
- [32] Kang M, Lee S H, Kwon M, *et al.* Nanocomplex-mediated *in vivo* programming to chimeric antigen receptor-M1 macrophages for cancer therapy. *Adv Mater*, 2021, **33**(43): 16
- [33] Zhang L, Tian L, Dai X Y, *et al.* Pluripotent stem cell-derived CAR-macrophage cells with antigen-dependent anti-cancer cell functions. *J Hematol Oncol*, 2020, **13**(1): 5
- [34] Zhang W L, Liu L, Su H F, *et al.* Chimeric antigen receptor macrophage therapy for breast tumours mediated by targeting the tumour extracellular matrix. *Br J Cancer*, 2019, **121**(10): 837-845
- [35] Ueda T, Kaneko S. Induced pluripotent stem cell-derived natural killer cells gene-modified to express chimeric antigen receptor-targeting solid tumors. *Int J Hematol*, 2021, **114**(5): 572-579
- [36] Neek M, Kim T I, Wang S W. Protein-based nanoparticles in cancer vaccine development. *Nanomedicine*, 2019, **15**(1): 164-174
- [37] Segura M M, Mangion M, Gaillet B, *et al.* New developments in lentiviral vector design, production and purification. *Expert Opin Biol Ther*, 2013, **13**(7): 987-1011
- [38] Annoni A, Gregori S, Naldini L, *et al.* Modulation of immune responses in lentiviral vector-mediated gene transfer. *Cell Immunol*, 2019, **342**: 8
- [39] Chen Y Z, Yu Z Y, Tan X W, *et al.* CAR-macrophage: a new immunotherapy candidate against solid tumors. *Biomed Pharmacother*, 2021, **139**: 5
- [40] Santoni M, Massari F, Montironi R, *et al.* Manipulating macrophage polarization in cancer patients: from nanoparticles to human chimeric antigen receptor macrophages. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, **1876**(1): 5
- [41] Van Der Heide D, Weiskirchen R, Bansal R. Therapeutic targeting of hepatic macrophages for the treatment of liver diseases. *Front Immunol*, 2019, **10**: 14
- [42] Roth T L, Puig-Saus C, Yu R, *et al.* Reprogramming human T cell function and specificity with non-viral genome targeting. *Nature*, 2018, **559**(7714): 405-409
- [43] Yoon D H, Osborn M J, Tolar J, *et al.* Incorporation of immune checkpoint blockade into chimeric antigen receptor T cells (CAR-Ts): combination or built-in CAR-T. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(2): 16
- [44] Niu Z Y, Chen G X, Chang W, *et al.* Chimeric antigen receptor-modified macrophages trigger systemic anti-tumour immunity. *J Pathol*, 2021, **253**(3): 247-257
- [45] Kim J, Bae J S. Tumor-associated macrophages and neutrophils in tumor microenvironment. *Mediators Inflamm*, 2016, **2016**: 6058147

CAR-M Cell-based Immunotherapy Directed Against Solid Tumors*

YANG Yan¹⁾, GAN Ni-Cui^{1,2)}, PENG Ning-Xin¹⁾, ZHANG Lan-Xuan¹⁾,
ZHANG Ji-Hong¹⁾, LI Jin-Yuan^{1,2)**}

¹⁾Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

²⁾General Surgery Department 1, The First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

Abstract Chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) have achieved remarkable success in the treatment of hematological cancers, but little progress in solid tumors. Meanwhile, innate immune cells-based tumor immunotherapy has been scarcely developed. Macrophages detect and clear malignant cells through phagocytosis and innate immune sensing, thus being potential targets for cancer immunotherapy. Promising evidence from preclinical studies have shown chimeric antigen receptor macrophages (CAR-M) as an effective therapeutic strategy in solid tumors. This review sketches the prospect of CAR-immune cell therapeutics and emphasizes current status and perspective of CAR-M cell therapy trials and limitations associated with CAR-M. We also describe CAR-M can be manufactured from pre-existing cell lines or induced pluripotent stem cells, while transfection vectors for CAR-M show different characteristics, highlighting CAR-M as a next-generation therapeutic modality linking the closely intertwined innate and adaptive immunity to induce efficacious anti-tumor immune responses.

Key words chimeric antigen receptor, macrophage, solid tumors

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0426

* This work was supported by grants from Yunnan Health Training Project of Reserve Talents (H-2019037), Doctoral Research Foundation of Yunnan First People's Hospital (KHBS-2020-022), Yunnan Fundamental Research Projects (2019FD015), and Kunming Joint Special Project on Medical Research (2019FE001-310).

** Corresponding author.

Tel: 86-13529132284, E-mail: jinyuan1208@126.com

Received: September 6, 2022 Accepted: October 28, 2022