

序

免疫细胞药物是一类利用免疫细胞（如 T 细胞、NK 细胞、树突状细胞等）进行治疗的生物制剂。这类药物可广泛应用于癌症、感染性疾病和自身免疫病等多种疾病。免疫细胞药物不仅靶向性强，能建立长期免疫记忆并降低复发率，还避免了化疗、放疗等传统方法常见的严重副作用和耐药性问题。这些优势使免疫细胞药物提供的突破性治疗方案，特别适用于复发和难治性疾病。随着分子生物学、细胞生物学及基因工程技术的飞速发展，免疫细胞药物的研发正在从基础研究快速迈向临床应用。自首个嵌合抗原受体 T 细胞（CAR-T 细胞）药物上市以来，免疫细胞药物研发进入高速发展阶段。具体体现在“通用型”和“多靶点”CAR-T 细胞技术的进步，推动了 CAR-T 细胞疗法的商业化和优化进程。此外，无须个性化制备的 NK 细胞与 CAR-NK 细胞被视为极具潜力的下一代疗法；而具备更广泛抗原识别的 TCR-T 细胞以及兼具特异性与非特异性杀伤功能的 $\gamma\delta$ T 细胞也已成为研究热点。同时 CRISPR 等基因编辑技术在优化免疫细胞药物、克服 CAR-T 细胞耐药性及减少副作用方面正展现出巨大的应用潜力。随着免疫细胞药物的突破性发展，我国自主研发的 CAR-T 细胞疗法也陆续获批。为此，国家陆续出台各项政策支持细胞治疗领域，推动技术创新和临床试验。

尽管免疫细胞药物的研发和应用已经取得令人瞩目的成就，但其发展仍面临诸多挑战，这包括：高昂的个体化制备成本与较差的可及性；可能引发细胞因子风暴、脱靶效应等不良反应；主要疗效局限于血液肿瘤，而对实体瘤的疗效仍待突破；如何实现大规模、稳定的标准化生产与监管。随着基因编辑、人工智能、生物工程等技术的发展，免疫细胞药物有望在普及性、联合治疗、实体肿瘤治疗及自动化规模化生产等方面取得更多突破。

该书由云南省肿瘤免疫防治研究重点实验室主要成员撰写，旨在全面介绍免疫细胞药物的最新研究进展及应用领域。内容重点关注免疫细胞疗法的作用机制、治疗效果、临床面临的挑战及未来发展方向，并融入实验室多年围绕 CAR-T 细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞（CIK 细胞）、树突状细胞等免疫细胞治疗开展的基础及临床研究所取得的部分成果和实践心得。我们期望通过此书的出版，推动免疫细胞药物的研究与应用，帮助科研人员和临床医师更好地把握和应对免疫治疗带来的新机遇与新挑战，从而促进这一领域的健康发展，以提升我国包括肿瘤在内的疾病防治水平，为更多患者带来治愈的希望！

谭 晶 教授

云南省肿瘤免疫防治研究重点实验室主任

昆明市延安医院

2025 年 9 月

前言

免疫细胞药物是一类利用人体免疫细胞通过改造、扩增或激活等方式，用于治疗疾病的生物制剂。这类药物通过增强、调控或重建免疫系统的功能，来对抗肿瘤、感染性疾病和自身免疫病等。近年来，免疫细胞在肿瘤发生发展及肿瘤微环境中的作用日益受到重视，细胞过继免疫治疗作为肿瘤免疫治疗中的重要手段，已得到业界的广泛认可。免疫细胞药物类型多样，其应用已从最初的以治疗肿瘤为主，拓展至自身免疫病、纤维化疾病、衰老相关疾病及感染性疾病等诸多领域。为了更好地推进免疫细胞药物的研发与应用，我们亟须总结各类免疫细胞药物的药理机制、研发特点及临床应用方案。同时，也需致力于开发简便、长效、稳定甚至彻底治愈肿瘤的免疫制剂，以更有效地防治肿瘤。理解免疫细胞的基础知识对疾病预防、诊断和治疗具有重要意义。在此背景下，《免疫细胞药物研究与应用》应运而生。

本书共 5 章，分别介绍了免疫细胞药物的研究与历史、特异性免疫细胞治疗药物及相关技术、非特异性免疫细胞治疗药物及相关技术、免疫细胞的临床应用及瓶颈、肿瘤类器官在免疫细胞药物研发中的应用。各章自成体系，又互相联系、互相补充，对目前免疫细胞药物理论和实际应用进行总结和概括。全书将免疫细胞药物按照靶向性与非靶向性系统进行全面介绍，特异性免疫细胞中重点介绍嵌合抗原受体 T 细胞（CAR-T 细胞）、CAR-NK 细胞、CAR-巨噬细胞、CAR-Treg 细胞、树突状细胞、肿瘤浸润淋巴细胞、T 细胞受体工程化 T 细胞；非特异性免疫细胞中重点介绍 $\gamma\delta$ T 细胞、细胞因子诱导的杀伤细胞、自然杀伤细胞在内的免疫细胞的起源、发育、表面标记、功能基础理论知识，创新性绘制了免疫细胞及功能模式图，以帮助读者更好地理解各类免疫细胞特点及功能。此外，本书还介绍了制备技术方法、应用范围和研究进展，并总结了免疫细胞药物除了治疗肿瘤外在其他疾病中的应用。本书注重实用性，在免疫细胞临床应用及药理机制章节中着重介绍其临床治疗方案、药理机制、临床疗效等，为临床应用提供指导，并将肿瘤类器官在免疫细胞药物研发中的最新进展与应用编入书中。书中所引用的部分数据源自本实验室的研究成果，特别是在 CAR-T 细胞、NK 细胞、CIK 细胞与树突状细胞领域，相关临床前探索、技术方法建立及临床研究均由本实验室率先完成，并实现了国内外首次报道。本书旨在为细胞药物的研发和应用提供参考，并为肿瘤研究人员与临床医师提供有力的借鉴。

李琳 侯宗柳 教授

昆明市延安医院

2025 年 10 月

目 录

第一章 免疫细胞治疗的研究与历史.....	1
第一节 概述.....	1
第二节 免疫细胞定义分类与来源.....	3
第三节 常见免疫细胞过继治疗的历史与发展.....	31
第二章 特异性免疫细胞治疗药物及相关技术.....	38
第一节 概述.....	38
第二节 嵌合抗原受体 T 细胞	39
第三节 嵌合抗原受体 NK 细胞	49
第四节 嵌合抗原受体调节性 T 细胞	76
第五节 嵌合抗原受体巨噬细胞.....	90
第六节 树突状细胞与肿瘤疫苗.....	98
第七节 肿瘤浸润淋巴细胞.....	105
第八节 T 细胞受体工程化 T 细胞.....	125
第三章 非特异性免疫细胞治疗药物及相关技术.....	151
第一节 概述.....	151
第二节 $\gamma\delta$ T 细胞	153
第三节 细胞因子诱导的杀伤细胞.....	168
第四节 自然杀伤细胞.....	185
第四章 免疫细胞的临床应用及瓶颈.....	218
第一节 概述.....	218
第二节 免疫细胞在肿瘤微环境中的应用.....	219
第三节 嵌合抗原受体 T 细胞治疗自身免疫病	222
第四节 嵌合抗原受体 T 细胞在纤维化中的应用	238
第五节 免疫细胞在传染性疾病中的应用.....	246
第六节 免疫细胞在其他疾病中的应用及其应用瓶颈.....	260
第五章 肿瘤类器官在免疫细胞药物研发中的应用.....	271
第一节 概述.....	271
第二节 肿瘤类器官的起源、定义与特征.....	272
第三节 用于免疫细胞药物评价的肿瘤类器官模型.....	279

第一章 免疫细胞治疗的研究与历史

1893 年外科医师 William Coley 发现肉瘤患者术后被细菌感染反而更易造成肿瘤消退，从此拉开肿瘤免疫治疗的序幕。肿瘤的免疫治疗包括治疗性疫苗、细胞过继免疫治疗及抗体免疫治疗等方法。细胞过继免疫治疗是指采集和分离免疫细胞，体外基因修饰和扩增后回输到患者体内，直接杀死病原体、癌细胞等，并激发和增强机体的自身免疫功能，从而达到治疗肿瘤的目的的方法。与传统的治疗手段相比，免疫细胞治疗更注重个体化，同时还能产生持久的免疫记忆且毒副作用低。早期的细胞过继免疫治疗主要是将患者体内免疫细胞进行分离，并在体外扩增培养获得一定数量的树突状细胞（DC）、淋巴因子激活的杀伤细胞（LAK 细胞）、肿瘤浸润淋巴细胞（TIL）、细胞因子诱导的杀伤细胞（CIK 细胞）等细胞再回输到患者体内。大量的临床数据显示这类未进行改造的源于患者自身的细胞确实具有一定的临床效果，但由于患者本身的免疫抑制状态，单纯地将自身细胞放大培养并以回输的形式进行治疗，其效果仍然有待提高。此后，细胞过继免疫治疗进入嵌合抗原受体（chimeric antigen receptor, CAR）改造阶段，主要的技术为 CAR-T/NK 细胞疗法，其优点是将肿瘤的识别与激活集中在效应细胞，且不受主要组织相容性复合体（MHC）分子限制，极大地提高了效应细胞的激活与杀瘤效率。CAR-T/NK 细胞疗法已在血液肿瘤中得到很好的验证，到 2024 年，全球有 10 种嵌合抗原受体 T 细胞（CAR-T 细胞）药物上市，其主要适应证为复发或难治性大 B 细胞淋巴瘤成年患者、复发或难治性套细胞淋巴瘤（MCL）、复发或难治性慢性淋巴细胞白血病（CLL）或小淋巴细胞淋巴瘤（SLL）成年患者、复发或难治性滤泡性淋巴瘤（FL）成年患者等，以上 CAR-T 细胞的靶点均为 CD19；而用于治疗复发或难治性多发性骨髓瘤（MM）的 CAR-T 细胞，其靶点为 B 细胞成熟抗原（BCMA）。作为一种新型肿瘤免疫疗法，CAR-T 细胞疗法在治疗血液恶性肿瘤方面已展现出显著疗效，并成功应用于多种血液恶性肿瘤的治疗。随着技术的不断进步，CAR-T 细胞疗法正逐步向实体肿瘤领域拓展，尽管面临靶点选择、细胞浸润、细胞持久性等多个问题的挑战，但其发展前景仍然广阔。

第一节 概 述

癌症免疫治疗的概念可以追溯到 19 世纪末，当时外科医师 Coley 首次使用细菌毒素治疗癌症患者，试图通过刺激患者的免疫系统来对抗肿瘤。然而，直到 20 世纪中叶，免疫治疗的概念才真正开始得到科学界的重视。随着对免疫系统结构和功能的深入研究，科学家们逐渐揭示了免疫细胞在癌症发生发展中的关键作用。20 世纪 70 年代，免疫学家 Ralph Steinman 发现了树突状细胞（DC），这种细胞在免疫系统激活中扮演着重要角色。

此后，免疫治疗的研究方向逐渐转为如何通过激活患者的免疫系统来对抗癌症。20 世纪 80 年代，Steven Rosenberg 在美国国家癌症研究所（NCI）实验室中开展了一系列开创性研究，首次展示了 T 细胞在癌症治疗中的潜力。他的团队成功开发了 TIL 治疗，并在晚期黑色素瘤患者中取得了显著的疗效。随着免疫学研究的不断深入，免疫检查点抑制剂（如 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 抑制剂）和 CAR-T 细胞疗法等新型免疫疗法相继问世。这些疗法通过解除免疫系统的抑制机制或增强 T 细胞的靶向性，极大地推动了癌症免疫治疗的发展。

淋巴因子激活的杀伤细胞（lymphokine-activated killer cell, LAK 细胞）是最早的细胞免疫治疗方法。利用白细胞介素 -2（interleukin-2, IL-2）处理肿瘤患者或者健康人外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell, PBMC），诱导出 LAK 细胞，其具有非特异性杀伤能力，可以杀伤对自然杀伤细胞（natural killer cell, NK 细胞）不敏感的肿瘤细胞。Rosenberg 等经美国食品药品监督管理局（FDA）批准后将 LAK 细胞治疗应用于临床研究，结果表明 LAK 细胞治疗与 IL-2 的联合使用会在一定程度上控制黑色素瘤的扩散，但大量使用 IL-2 可造成全身性毒副作用，故最终没有得到推广。

细胞因子诱导的杀伤细胞（cytokine-induced killer cell, CIK 细胞）是一种较新的抗肿瘤活性细胞，其体外增殖较快，具有广谱的强杀瘤特性等。CIK 细胞能够调节和增强癌症患者的免疫功能。截止当前，约有 200 ~ 350 项针对癌症的 CIK 细胞临床研究被注册，主要集中在美国、中国和德国，其中主要用于胃肠道肿瘤、肝癌、肺癌和白血病等。然而，CIK 细胞技术由于其非特异、非靶向的性质导致疗效仍然不理想，并具有免疫反应等副作用。但考虑到其对患者生活质量的改善存在一定优势，故至今仍应用于很多医院。

肿瘤浸润淋巴细胞（tumor infiltrating lymphocyte, TIL 细胞）是从患者肿瘤组织中分离出肿瘤反应性 T 细胞进行体外扩增后回输给患者。研究显示其比外周血单个核细胞来源的 CIK 细胞效果更佳。TIL 的过继性转移是治疗 IV 期黑色素瘤患者最有效的方法之一。最近的研究表明，临床客观疗效波动于 49% ~ 72%。然而，TIL 疗法仍然具有一定局限性，其中包括：某些肿瘤中细胞的抗原性较弱；结肠癌、乳腺癌等癌症中 T 细胞浸润的特异性和功能不详；TIL 细胞的分离与扩增比较困难等。然而 TIL 细胞疗法仍然作为一种细胞免疫疗法，与免疫检查点抑制剂和 CAR-T 细胞疗法共同构成了癌症免疫治疗的重要支柱。

抗原特异性 T 细胞抗原受体（T-cell antigen receptor, TCR）转导 T 细胞治疗是指通过基因工程技术（慢病毒载体或反转录病毒载体）将患者外周血或 TIL 细胞中克隆出来的肿瘤特异性 T 细胞进行基因修饰，使其能够特异性识别肿瘤抗原，并发挥杀瘤作用，然后大量扩增后用于细胞过继免疫治疗。其中针对转移性黑色素瘤的抗原 MART-1、gp-100 的两个高亲和性 TCR 处理得到了 30% 的临床客观疗效。其他抗原包括 p53、NY-ESO-1、CEA 等治疗黑色素瘤以外的其他癌症的特异性 TCR 相关临床试验也取得了较大进展。然而，脱靶问题及自身免疫反应是 TCR 转导 T 细胞治疗需要面对解决的问题。相较于 TCR 的免疫疗法来说，CAR-T 细胞疗法是通过基因工程技术将 T 细胞改造成能专门识别并高效杀灭肿瘤细胞的“超级战士”，CAR 的应用使得肿瘤的靶向锁定不再受到人类白细胞抗原（human leukocyte antigen, HLA）的控制，提示这种方法能治疗更多的患者。

第二节 免疫细胞定义分类与来源

人类发挥先天和适应性免疫功能的细胞与造血系统的细胞具有共同的祖细胞起源。用于造血或淋巴细胞生成的两种细胞类型都源自骨髓的共同多能 $CD34^+$ 造血干细胞。多能 $CD34^+$ 造血干细胞群能分化为髓系前体细胞与淋系前体细胞；前者进一步分化为红细胞、巨核细胞和粒细胞/单核细胞谱系；而淋系前体细胞发育为 NK、T 和 B 细胞。常见的淋巴系祖细胞可以沿着两条途径分化。T 细胞的发育需要胸腺环境，而 B 细胞则在法氏囊或骨髓（人类）的微环境中发育（图 1-2-1）。

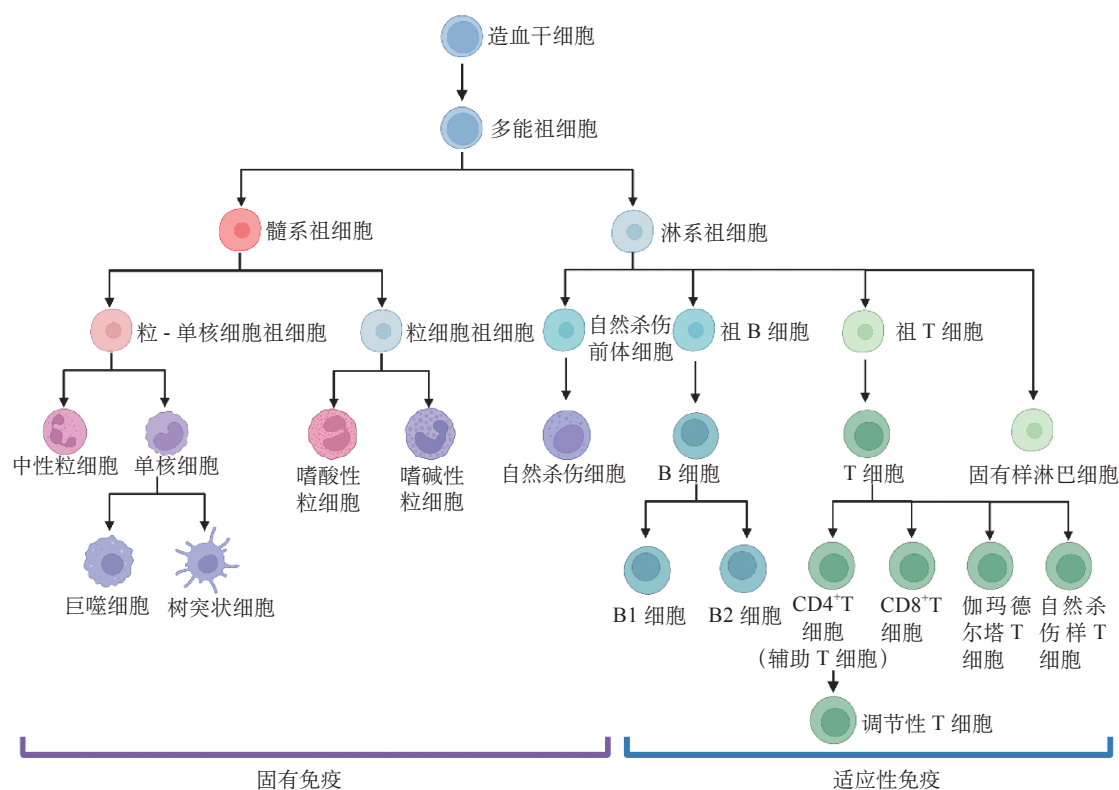


图 1-2-1 免疫细胞分化及来源（经授权使用 Biorender.com 制作）

20 世纪 60 年代，Jaques Miller 首次将胸腺确定为 T 细胞免疫功能的来源。在那之前，胸腺仅被认为是一个未充分发育的结构及淋巴细胞的“墓地”。通过新生胸腺切除小鼠的胸腺移植实验，Miller 发现免疫功能可以恢复，但这些小鼠除了供体来源的皮肤移植外均排斥同种异体移植，揭示了胸腺作为 T 细胞免疫功能的来源，并且建立起其自身免疫耐受。随后的研究表明，小鼠淋巴细胞可以分为两个不同的谱系，它们要么来自骨髓（B 细胞），要么来自胸腺（T 细胞）。

1975 年，Kiessling 和 Herberman 首次在小鼠体内同时发现了自然杀伤细胞（NK 细胞），他们通过分离诱导小鼠脾细胞，使其对体外培养的小鼠 Moloney 白血病细胞产生特异性

胞溶解活性，从而阐明了NK细胞作为具有自然杀伤属性的淋巴细胞特性。这些天然存在的杀伤细胞最初被称为“N细胞”，与T细胞、B细胞和巨噬细胞不同，1986年，Lanier及其同事提出，“天然发生的细胞毒性”一词应替换为“非主要组织相容性复合体（MHC）限制性细胞毒性”，并进一步定义这些效应细胞为NK细胞。同年，Kärre和Ljunggren发现NK细胞具备识别恶性转化或病毒感染细胞的潜在机制。

一、固有免疫细胞

固有免疫细胞包括经典固有免疫细胞（单核细胞、NK细胞、巨噬细胞、经典树突状细胞、中性粒细胞、肥大细胞等）、固有淋巴细胞和固有淋巴样细胞，作为人体第二道防线的重要成分，在抗感染及抗肿瘤免疫中，通过吞噬杀伤功能和抗原提呈功能，清除病原体及发生转化的癌变细胞。

（一）NK细胞

NK细胞是机体天然免疫系统的重要组成部分，在监视肿瘤早期恶性转化、清除病毒及感染细胞、调控免疫系统反应等过程中发挥关键作用。NK细胞能通过穿孔素/颗粒酶途径、死亡受体途径、抗体依赖细胞介导的细胞毒作用（ADCC）及释放多种细胞因子，诱导肿瘤细胞和病毒感染细胞死亡或凋亡，从而发挥免疫监视功能。与T、B细胞不同，NK细胞无须预先致敏，无主要组织相容性复合体（MHC）限制性，主要通过其内部的激活信号和抑制信号的博弈决定其自身的状态。当抑制性受体[如杀伤免疫球蛋白样受体（killer immunoglobulin-like receptor, KIR）]信号的总体水平超过激活性受体信号时，NK细胞的激活受到阻碍，导致信号诱导细胞耐受。在病毒感染或转化时，靶细胞通常上调NK细胞激活受体（如NKG2D）的刺激配体，通过抑制KIR和NKG2A诱导的激活信号水平超过抑制性信号，从而激活NK细胞释放细胞因子并产生对靶细胞的毒性。在实体肿瘤中，NK细胞抑制性受体的I类MHC配体下调，抑制性信号的丧失而激活信号没有减弱，也会导致NK细胞激活。此外，NK细胞能利用受体-配体相互作用，包括肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体（TRAIL）和Fas配体（FasL）促进死亡受体诱导的细胞凋亡。NK细胞也能通过分泌细胞因子和趋化因子进一步调节免疫反应。在细胞水平，NK细胞是根据它们的分化簇（cluster of differentiation, CD）表面受体CD56⁺CD3⁻淋巴细胞来定义的。另外，还可以根据CD56的表面密度和Fcγ受体Ⅲ（FcγRⅢ，也称为CD16）低亲和力对NK细胞进行两种不同的亚群分类。CD56^{bright}CD16^{dim}亚群及CD56^{dim}CD16^{bright}亚群其免疫调节活性在功能上是不同的，后者具备直接细胞毒性能力。CD16的表达为NK细胞提供了通过ADCC途径协同杀死抗体包被（调节）的靶细胞的能力，这是适应性免疫系统T细胞无法实现的。细胞毒性是抗肿瘤免疫反应的关键因素，缺乏穿孔素的小鼠肿瘤生长更快。NK细胞最初是根据其在体外杀死肿瘤细胞的能力来鉴定和命名的，但人们对NK细胞浸润恶性肿瘤的情况知之甚少，尤其是在人类中。NK细胞对肿瘤具有保护作用的第一个证据来自甲基胆蒎（methyl-cholanthrene, MCA）诱导的小鼠纤维肉瘤和肿瘤细胞注射实验，其中NK细胞被抗asialo-GM1或NK1.1（也称为KLRB1C）抗体耗竭；在没有NK细胞的情况下，肿瘤生长明显更快。这些发现在经过基因改造，缺乏激活自然杀伤细胞p46相关蛋白（NKp46；也称为NCR1）受体的小鼠中得到了证实。NK细胞可以

独立地在肿瘤坏死因子 (TNF) 相关凋亡诱导配体 (TRAIL; 也称为 TNFSF10) 缺陷的小鼠中介导靶细胞死亡, 从而使肿瘤生长受损。然而, 在人类中, 已经报道了一些选择性 NK 细胞缺乏的病例, 但这些 NK 细胞缺乏患者的癌症发病率似乎并不明显高于普通人群, 这可能与白细胞的补偿机制有关。此外, 到目前为止, NK 细胞缺乏症患者队列的规模和随访时间非常有限, 不足以正确分析 NK 细胞在人类肿瘤控制中的作用。然而, 各种研究表明, 不同类型实体瘤患者的外周血天然细胞毒性明显低于健康个体。几项针对大量患者的研究评估了外周 NK 细胞毒性对以下患者的预后价值: 癌症 NK 细胞功能低下与头部、颈部、咽部和其他实体瘤转移瘤的发展已确定有关。在结肠癌患者中, 肿瘤切除后局部复发的风险与术前 NK 细胞水平低相关。来自癌症患者的外周血 NK 细胞具有较低水平的活化受体 NKp46、NKp30 和 NKG2D 的表达, 这种下调的幅度与肿瘤进展相关。NK 细胞浸润肾透明细胞癌 (ccRCC) 与良好的预后相关。相反, NK 细胞浸润对非小细胞肺癌 (NSCLC) 的临床结果没有影响; 但是 NK 细胞激活受体在肿瘤内显著下调, 损害了细胞毒性。因此, NSCLC 患者的临床结果更可能取决于 NK 细胞表型和功能, 而不是 NK 细胞密度。NK 细胞功能受细胞表面受体和细胞因子调节。其中有细胞因子受体 (IL-2R、IL-4R 等), 这些受体与细胞因子结合, 调节 NK 细胞的生长、活化和功能; 还有激活性受体, 如 NKp 系列 (NKp30、NKp44 等) 和 NKG2D 等, 它们识别靶细胞上的配体, 启动 NK 细胞的杀伤活性; 抑制性受体, 例如 PD-1、TIGIT 等, 这些受体与相应配体结合后, 可抑制 NK 细胞的活性, 防止过度免疫反应; 此外, 还有一类激活性和 (或) 抑制性受体, 如 NKG2 和 KIR 家族, 它们根据结合的配体不同, 既可以激活也可以抑制 NK 细胞功能。这些受体共同作用, 精确调控 NK 细胞对靶细胞的识别和反应, 在免疫监视和免疫防御中发挥关键作用 (图 1-2-2)。

临床观察结果促使了治疗方法的发展, 这些方法旨在通过阻断肿瘤微环境中存在的抑制性 NK 细胞受体或免疫抑制因子来恢复肿瘤内 NK 细胞介导的细胞毒性。另外, 改善 NK 细胞迁移及浸润的方法也应该能达到治疗作用。NK 细胞能够通过分泌干扰素 γ 、肿瘤坏死因子 α 等趋化因子和细胞因子, 募集树突状细胞、巨噬细胞、T 细胞, 协同杀伤作用; 还能通过释放穿孔素、颗粒酶等介质, 直接诱导肿瘤细胞凋亡。IgG 抗体的 Fc 段分别与 NK 细胞上的 CD16 和肿瘤细胞表面的抗原形成交联, 发挥抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用。此外, NK 细胞表面表达凋亡相关因子配体 (FasL) 和 TNF 相关凋亡诱导配体 (TRAIL) 识别靶细胞上的受体并与其结合, 从而诱导细胞凋亡 (图 1-2-3)。

最近的研究表明, NK 细胞表达的其他免疫检查点分子, 例如 Toll/IL-1 受体 8 (TIR8; 也称为 SIGIRR), 细胞因子诱导的含 SH2 蛋白 (CIS), E3 泛素蛋白连接酶 CBL-B 和 TAM (TYRO3, AXL 和 MER) 酪氨酸激酶受体轴等靶点都可以通过加强 NK 细胞依赖性肿瘤免疫监测来控制其抗肿瘤功能。此外, 靶向 NK 细胞的抗体药物, 例如靶向抑制性受体 KIR、NKG2A 的单克隆抗体、免疫调节药物沙利度胺衍生物 (既能杀伤肿瘤细胞又能增加 NCR 表达, 扩大 NK 细胞群, 在各种模型中增加免疫细胞对肿瘤细胞的识别)、恢复 NK 细胞数量和功能酪氨酸激酶抑制剂、细胞因子疗法 IL-15 或 IL-15 超级激动剂 ALT803 (能扩增 NK 细胞群并增加其活化受体的表达, 而不诱导 Treg 细胞群的扩增)、能使 NK 细胞 NKG2D 表达的恢复及 TNF 和 IFN- γ 释放的 TGF- β 抑制剂 (触发 NK 细胞介导的肿

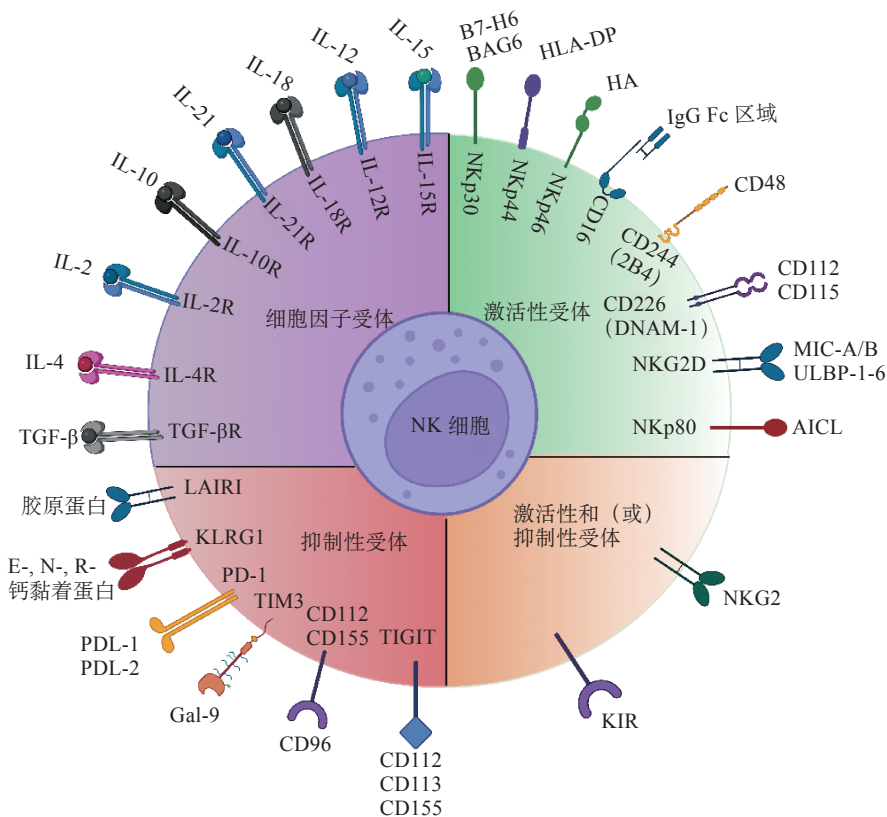


图 1-2-2 NK 细胞表面受体及受体 - 配体相互作用 (经授权使用 Biorender.com 制作)

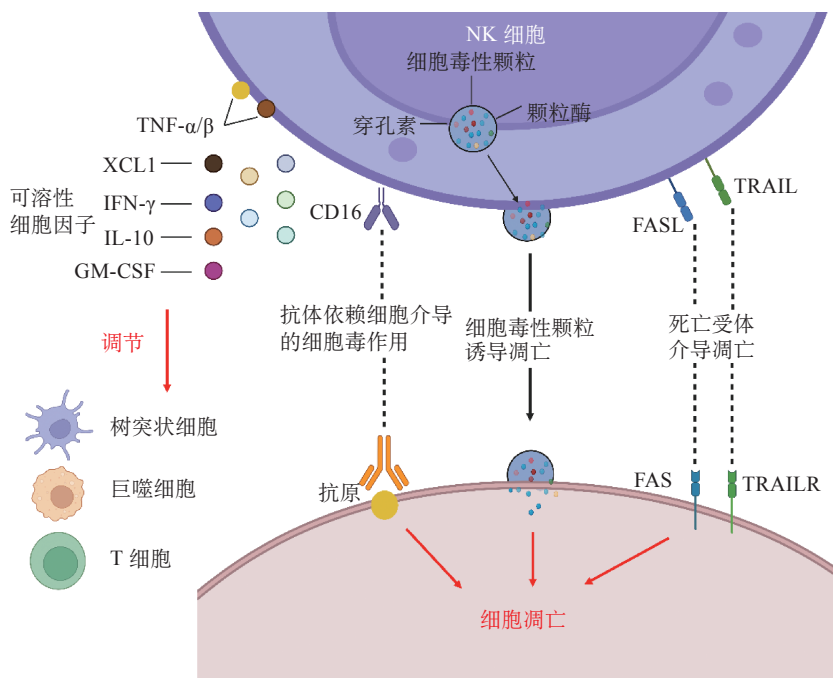


图 1-2-3 NK 细胞的杀伤机制 (经授权使用 Biorender.com 制作)

瘤细胞裂解)、针对肿瘤抗原和 NK 细胞受体具有特异性的双特异性抗体 BiKE 及三特异性抗体 TriKE, 等等。

当然, 在此基础上, 自体 NK 细胞输注、同种异体 NK 细胞输注及工程化 NK 细胞等 NK 细胞过继性治疗方法也不失为一种好的治疗选择。①自体 NK 细胞输注: 是指从患者外周血中扩增 NK 细胞群再回输到患者体内从而改善 NK 细胞肿瘤免疫监测功能。然而, 由于自身 HLA 分子的抑制, 它往往未能具有显著的治疗效果。此外, 由于自体 NK 细胞是从经过大量化学放射治疗的患者身上获得的, 其扩增效率和功能状态比同种异体 NK 细胞差得多。各种方法开发用于体外扩增 NK 细胞, 包括从单独的 IL-2 到用工程 K562 饲养细胞和激活细胞因子 (如 IL-2 和 IL-15) 等。一项最近发表的多发性骨髓瘤 I 期临床试验 (NCT02481934), 涉及 8 次输注工程 K562 激活的自体 NK 细胞, 该工程细胞表达膜结合形式的 IL-15 和 4-1BB 配体 (4-1BBL; 也称为 TNFSF9), 该治疗与化疗联用, 结果表明在临床和生物活性上均有潜在作用。②同种异体 NK 细胞: Velardi 小组对同种异体 NK 细胞输注的一项研究, 结果促使血液学家在半相合干细胞移植后测试高纯度 NK 细胞的输注, 以此作为一种增加移植物抗白血病效果而不产生移植物抗宿主病效果的方法。NK 细胞输注是在有或没有体外和体内 IL-2 依赖性 NK 细胞活化的情况下执行的, 这些策略均是可行的, 并产生了有前景的临床反应。一系列关于用细胞因子 (IL-2、IL-12、IL-15、IL-21 和 IL-18)、自体或异基因饲养细胞或工程饲养细胞系调控输注 NK 细胞的存活、成熟、增殖和效应功能的研究都在广泛开展中。从 CD34⁺ 脐带血祖细胞分化的 NK 细胞也是同种异体 NK 细胞的重要来源。第一项研究发生在多发性骨髓瘤患者身上, 这些患者在来那度胺和美法仑调节后第 5 天接受了脐带血来源的 KIR-HLA 不匹配的 NK 细胞移植输注, 持续 2 天。其研究结果令人鼓舞, 目前正在进行一项 II 期临床试验 (NCT01729091)。③工程化 NK 细胞: 通过 CAR 表达更有效地引导 NK 细胞介导的细胞毒性是治疗难治性癌症的一种新兴策略, 基于此, 各种工程化 NK 细胞的研究应运而生。其靶点包括靶向多发性骨髓瘤的 SLAMF7、CD138, AML 中的 CD33、T 细胞恶性肿瘤中的 CD7 及在 B 细胞肿瘤中表达的 CD19。抗 CD123 CAR-NK 细胞已经在体外获得验证, 并在抗 AML 细胞系和原代母细胞中取得较好的结果。人们通过 IL-15 和 CD19-CAR (iC9/CAR.19/IL-15 CB-NK) 的表达尝试延长 CAR-NK 细胞的寿命。在 B 细胞淋巴瘤的临床前模型中检测到高水平的抗肿瘤活性, 这些工程化的 NK 细胞目前处于 I / II 期研究中 (NCT03056339)。对于实体恶性肿瘤的治疗, CAR-NK 细胞疗法已经在靶向各种肿瘤抗原, 包括人表皮生长因子受体 -2 (HER-2; 也称为 ERBB-2)、神经节苷脂 GD2、上皮细胞黏附分子 (EPCAM)、EGFR、肾母细胞瘤蛋白 (WT1) 和无活性酪氨酸蛋白激酶跨膜受体 ROR1, 取得了令人兴奋的临床结果。基于工程化 NK 细胞的另一种非抗原特异性方法涉及表达 NKG2D 的 CAR-NK 细胞已被证明可以控制小鼠的血液学和实体瘤生长。然而, 这些细胞仅在一项针对转移性实体瘤患者的 I 期研究中进行了测试。目前正在进行一项测试脐带血产生的 CAR-NK 细胞, 用于治疗难治性 B 淋巴细胞恶性肿瘤的 I / II 期临床研究 (NCT03056339)。使用脐带血 CAR-NK 细胞的一个主要好处是可以产生大量 CAR-NK 细胞, 从而增加可及性并降低这种治疗方法的成本。

（二）单核巨噬细胞

单核细胞来源于骨髓中成人的造血过程中的常见单核细胞祖细胞，与巨噬细胞（单核细胞）/树突状细胞前体细胞等早期前体细胞相反，这些常见单核细胞祖细胞已经失去了产生浆细胞样树突状细胞和经典树突状细胞的潜力。CD115⁺小鼠单核细胞亚群现在分为 Ly6C^{high} 单核细胞（也称为 CX₃CR1^{int}CCR2⁺CD62L⁺CD43^{low}）和 Ly6C^{low} 单核细胞（CX₃CR1^{high}CCR2⁺CD62L⁺CD43^{high}）。基因表达谱分析结果支持小鼠群体中 Ly6C^{high} 和 Ly6C^{low} 分别对应人类中 CD14⁺ 和 CD14^{low}CD16⁺ 的两个主要亚群。单核细胞浸润是炎症和病理学的一个突出特征。

巨噬细胞由单核细胞分化而来，作为一种具有强大吞噬能力的免疫细胞，广泛分布于人体各种组织器官，在微生物感染中不仅能通过吞噬作用直接清除病原体，还能加工微生物抗原并提呈给 T 细胞激活适应性免疫；此外，巨噬细胞可以分泌多种细胞因子参与炎症反应。人巨噬细胞表达 CD14⁺、CD11b⁺、CD68⁺、CD36⁺。巨噬细胞的发育遵循“三阶段”起源模式，不同类型的巨噬细胞由不同发育时期的造血部位发育过来，包括胚胎期卵黄囊、胎儿期肝脏和出生后的骨髓。胚胎期卵黄囊产生的巨噬细胞独立于造血干细胞的前体细胞，直接分化为最早的巨噬细胞，以小胶质细胞的形式存在于大脑中。由卵黄囊迁移而来的巨噬细胞-树突状细胞前体在胎儿肝脏这个临时造血中心进行大规模扩增和分化，是其他组织驻留巨噬细胞（TRM）群的主要来源，包括在肝脏、肺、脾脏、胰腺和肾脏中发现的巨噬细胞。组织驻留巨噬细胞在成年期通过 Myb 非依赖机制实现自我更新。这一特性使得那些在胚胎期由卵黄囊和胎儿肝脏来源的巨噬细胞群体，能够独立于骨髓造血干细胞，在组织中终生维持。组织巨噬细胞是不迁移的细胞，可以监测其所位于的局部环境，例如使用活体显微镜所清晰观察到的小胶质细胞。因此，巨噬细胞的效应功能应当聚集在它们的周围。在这方面，巨噬细胞与高度流动的树突状细胞有很大不同，树突状细胞虽然也是免疫哨兵，但其是专门转移到组织引流淋巴结时来触发远程 T 细胞应答。巨噬细胞为了发挥其监护人的作用，它们配备了大量的传感分子，包括清道夫受体、模式识别受体 [Toll 样受体（TLR）]、C 型凝集素受体、RIG-I 样受体、结节样受体、核激素和细胞因子受体及黏附分子。然而，这些受体发挥的全部作用因不同组织巨噬细胞而异，可能反映于其对局部的适应性。巨噬细胞能够表达大量参与识别和摄取外源性及修饰自身配体的膜受体。细胞表面模式识别受体（TLR 识别细菌 LPS、病毒双链 RNA，Dectin-1/2 结合真菌 β -葡聚糖，MARCO 捕获肽聚糖）与病原体成分特异性结合后，通过 NF- κ B、STAT1/5、IRF3/5 等信号级联触发促炎因子（TNF- α 、IFN- γ ）释放及抗原提呈（MHC-II /CD86-CD28 轴）；调理素依赖性机制中，补体受体 CR3/CR4 与 iC3b 包被颗粒结合，Fc 受体 CD16/CD32/CD64 通过 IgG 抗体介导病原吞噬，而非调理素性清除则由 TIM-4/CD36 识别凋亡细胞磷脂酰丝氨酸、CD163 内吞血红蛋白-触珠蛋白复合物完成；趋化因子 CCL2-CCR2 和 CSF1R 分别调控单核细胞募集与巨噬细胞增殖分化，而 TREM2/DAP12 通过脂质代谢参与神经保护，其功能缺陷与阿尔茨海默病相关；特殊受体如 CD206 和 Siglec-1 标志巨噬细胞极化状态，SR-A/CD36 则促进多核巨细胞形成及动脉粥样硬化斑块发展，整体网络动态平衡着免疫清除、组织修复与疾病病理进程，图 1-2-4 中显示了部分代表性受体。巨噬细胞的通用效应功能与其高度发达的溶酶体有关，溶酶体具备重要的蛋白酶和杀菌活

性。此外,巨噬细胞通过提供趋化因子和细胞因子在协调炎症反应中也起着至关重要的作用,这些因子还可以招募和激活中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞。为了应对挑战,巨噬细胞还会产生大量的效应分子,包括一系列生长因子,如血小板衍生生长因子、胰岛素样生长因子、肝细胞生长因子和成纤维细胞生长因子等。巨噬细胞的活化与极化能通过体外培养诱导体系来实现。例如,单核细胞能通过加入佛波酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)被诱导为M ϕ 型巨噬细胞,再通过添加IL-13和IL-4获得M2型巨噬细胞,而添加IFN- γ 和LPS可获得M1型巨噬细胞。

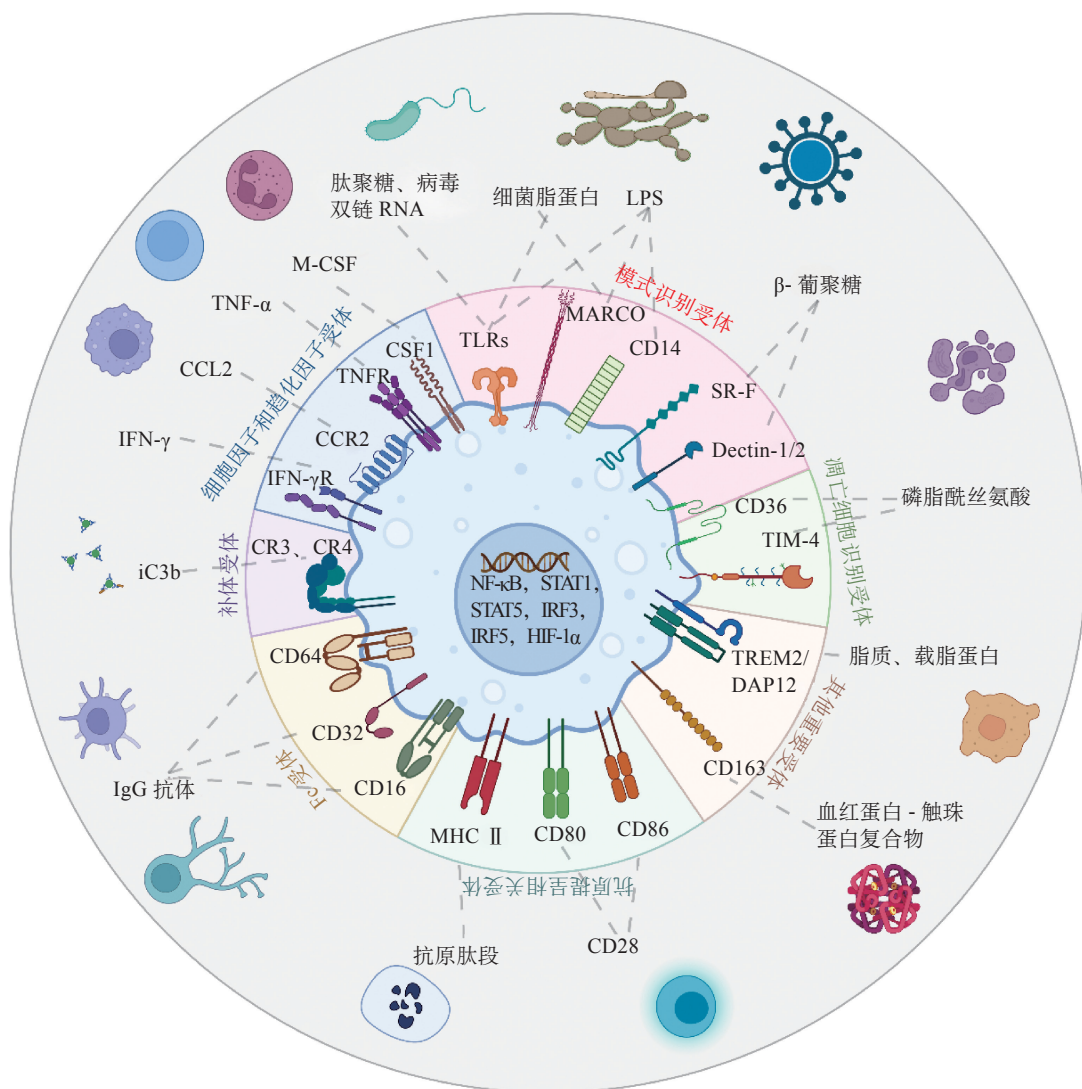


图 1-2-4 巨噬细胞表面受体 (经授权使用 Biorender.com 制作)

骨髓来源的巨噬细胞来源于出生后的造血干细胞,这些造血干细胞起源于胚胎的主动脉-性腺-中肾(AGM),在发育过程中依赖于转录因子c-Myb。与胚胎卵黄囊/胎儿肝脏衍生的巨噬细胞相比,骨髓衍生的巨噬细胞寿命较短,仅在炎症条件下才能聚集到组织。

组织分离的巨噬细胞由于可能的 RNA 污染、组织细胞吞噬作用和细胞数量不够等原因很难应用。可替代的是，巨噬细胞可以在体外通过多能干细胞诱导而来，许多研究利用小鼠 ESC 和 iPSC 系统在体外有效地产生巨噬细胞。此外，人类 iPSC 也被用于从培养体系中产生均匀的非黏附单核细胞群 ($> 90\%CD14^+$)。这些细胞可以连续收获几个月，同时保持其分化为成熟巨噬细胞的能力。这些 iPSC 衍生的巨噬细胞表现出巨噬细胞典型的特征，包括内吞脂蛋白、吞噬调理酵母颗粒、对脂多糖 (LPS) 刺激发生应答分泌特异性细胞因子以及 IFN- γ 和 IL-4 对其不同激活的能力。

巨噬细胞在病原清除、炎症信号放大及免疫稳态调控中起到强大的枢纽作用。巨噬细胞通过表面模式识别受体 (如 TLR) 捕获病原体后，触发吞噬体包裹病原体，并运输至溶酶体隔室，溶酶体水解酶负责酶解消化病原体的脂质膜、蛋白质及核酸，而由 NADPH 氧化酶和一氧化氮合酶 (NOS) 分别产生的活性氧 (O_2^-) 和一氧化氮 (NO) 则通过氧化反应协同破坏病原体成分。同时，病原识别激活 MAPK 信号级联 (MAPKKK $\rightarrow$ MAPKK $\rightarrow$ MAPK 磷酸化) 及 NF- κ B 通路 (I κ B 磷酸化后释放核因子 NF- κ B)，驱动转录因子 AP-1 和 NF- κ B 入核，促进 IL-6、IL-12 等促炎因子及趋化因子的合成与分泌。降解后的抗原肽段通过 MHC II 分子提呈至 T 细胞表面，其 TCR 与 MHC II - 抗原复合物结合传递第一信号，同时 B7 受体与 T 细胞 CD28 配体互作提供第二共刺激信号，激活初始 T 细胞并诱导其分化为 Th1 亚群 (IL-12 主导分化方向)。活化的 Th1 细胞分泌 IFN- γ ，通过结合巨噬细胞表面受体激活 JAK-STAT 通路，上调杀菌分子表达，形成免疫应答的正反馈循环。降解的病原体残骸经胞吐作用排出，而释放的 IL-6 和 IL-12 进一步协调中性粒细胞募集及适应性免疫应答强度 (图 1-2-5)。

肿瘤中存在大量巨噬细胞，巨噬细胞最初被认为参与了宿主的抗肿瘤反应。现在已知许多肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 会促进肿瘤的发生、进展和转移，它们属于巨噬细胞的 M2 亚型，通常为 $CD163^+CD206^+$ 。TAM 还通过表达蛋白酶 (包括基质金属蛋白酶和组织蛋白酶) 对肿瘤微环境的重塑起着关键作用。

(三) 树突状细胞

树突状细胞 (DC) 是起源于骨髓造血祖细胞的一种罕见的抗原提呈细胞。它们具备抗原摄取、加工和提呈给 T 细胞的功能。DC 能够在全身出现，特别是那些潜在的抗原接触部位。人类 DC 家族由几个不同的亚群组成，它们在定位、细胞表面表型和功能特化方面彼此不同。血液中的 DC，占外周血单个核细胞 (PBMC) 总量的不到 1%；通常根据其造血细胞谱系来源分为两个主要亚群：髓系树突状细胞 (mDC；也称为常规 DC；髓系 DC 谱系) 和浆细胞样 DC (pDC；淋巴谱系)。髓系 DC 的特征是 CD11c 的表型表达，并包含两个不同的亚群：CD11c/B220-1 $^+$ mDCs 和 CD141/B220-3 $^+$ mDCs。基于 CD11c 表达的缺失以及它们对 CD123、CD303/B220-2 和 CD304/B220-4 的阳性，浆细胞样 DC 可以与 mDC 进行表型区分。这些单独的 DC 亚群之间的功能差异，特别是它们在抗肿瘤免疫中起的不同作用仍有待充分阐明。其中，CD141 $^+$ mDC 被认为在 (肿瘤) 抗原交叉提呈方面优于其他 DC 亚群。当然，更多的研究还是表明所有血液 DC 亚群具有相当相似的交叉提呈能力。DC 也可以根据其发育阶段分为两种主要类型：未成熟 DC 和成熟 DC。未成熟 DC 能不断从外周组织取得外来抗原。它们摄取这些抗原且高度特异，并配备了广泛