

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.11.010

· 综述 ·

RNA 及其衍生体：肿瘤免疫治疗的新策略

RNA and its derivatives: new strategies for tumor immunotherapy

赵启航¹综述;徐俊芳²,王品¹审阅(1. 海军军医大学 免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室,上海 200433; 2. 同济大学医学院 上海市肺科医院,上海 200433)

[摘要] RNA在多种生理和病理过程中起着至关重要的作用。在过去的几十年中,研究人员已经设计出多种类型的RNA及其衍生体,并应用于不同的生物学领域。研究证实,RNA分子在肿瘤的生长、转移、代谢和免疫逃逸等方面发挥着重要作用。基于肿瘤相关RNA的研究和相关技术的应用,RNA已经被设计应用于肿瘤免疫治疗之中。此外,作为肿瘤免疫治疗的工具,RNA可以与其他类型的免疫疗法结合使用,例如免疫检查点抑制剂、树突状细胞回输治疗以及嵌合抗原受体T细胞免疫疗法等。在综述中,论述了各种RNA工具(包括RNA适配体、mRNA疫苗和RNA溶瘤病毒)在肿瘤免疫治疗中应用的研究进展,总结了这些RNA工具治疗肿瘤的优缺点,并展望了RNA及其衍生体未来在肿瘤免疫治疗中的潜在临床应用。

[关键词] RNA工具;肿瘤免疫治疗;非编码RNA;RNA适配体;mRNA疫苗;RNA溶瘤病毒。

[中图分类号] Q522; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)11-1119-10

RNA既是遗传信息的载体或传递者,也是多种生物学功能的执行者。不同的RNA在调控各种生命活动中起着关键作用,根据是否具有蛋白质编码能力,可将其分为编码RNA和非编码RNA。编码RNA(包括mRNA及其前体)的主要功能是通过翻译将遗传信息传递给蛋白质,而非编码RNA的主要功能是通过多种生物学机制调控生命活动,一些非编码RNA在不同组织中具有特定的表达谱,并且这些非编码RNA的异常表达可能引起肿瘤等疾病的发生和进展。对于肿瘤而言,HANAHAN和WEINBERG^[1]在2011年提出了10项肿瘤的特征。基于这些特征,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)、单克隆抗体和多种细胞疗法的发展为肿瘤免疫治疗开辟了革命性的治疗模式^[2]。基于不同RNA的特性,人们期望将某些类型的RNA制剂和RNA病毒等作为RNA工具应用于肿瘤免疫治疗,包括RNA适配体、mRNA肿瘤疫苗和RNA溶瘤病毒等,本文重点论述RNA作为新工具在肿瘤免疫治疗中的应用前景。

1 RNA适配体

核酸适配体(aptamer)是一种通过指数富集的配体系统进化(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX)技术得到的具有特定空间结构的寡核苷酸序列(RNA或DNA),其特点是与相应的靶标分子(如蛋白质、病毒、细菌、重金属离子等)有严格的识别能力和高度的亲和力。与抗体相似,它们可以通过非共价键例如氢键、离子键和范德华力等以高特异性和亲和力结合其靶标^[3]。对

于SELEX技术而言,首先是化学合成具有随机序列的核酸文库,随后在该文库范围内进行多轮筛选。通常每轮筛选有三个步骤:第一步是将寡核苷酸随机序列文库与靶分子一起孵育;第二步是从包括未结合的寡核苷酸在内的全部寡核苷酸中分离出寡核苷酸和靶分子的复合物;第三步是洗脱结合的寡核苷酸序列,并使用PCR扩增这些序列,然后进入下一轮筛选过程^[4],并通常在6~15轮循环后可获得可用的适配体。1990年,SPÖRING等^[5]首次设计了具有抗T4聚合酶功能的RNA适配体。

为了克服RNase降解,需要对用于体内治疗的RNA适配体进行一些修饰。其中,在整个SELEX过程中最常见的修饰类型是2'-氟嘧啶,由于大多数的RNase不能识别这种修饰,因此这种修饰起到防止被降解的作用。此外,2'-氨基嘧啶或2'-O-甲基核苷酸也可用于适配体的修饰^[6]。除此之外,还设计出几代新一代的适配体,例如SOMAmers,其通过脱氧尿苷残基修饰获得疏水蛋白样特性来防止被降解。在初步获得高特异性亲和力的适配体后,还可以通过引入进一步的修饰来改善体内的效价。而高通量测序技术和软件的进步则加速了识别、富集、选择适配体的过程,并减少了获得高亲和力适配体的时间周期。

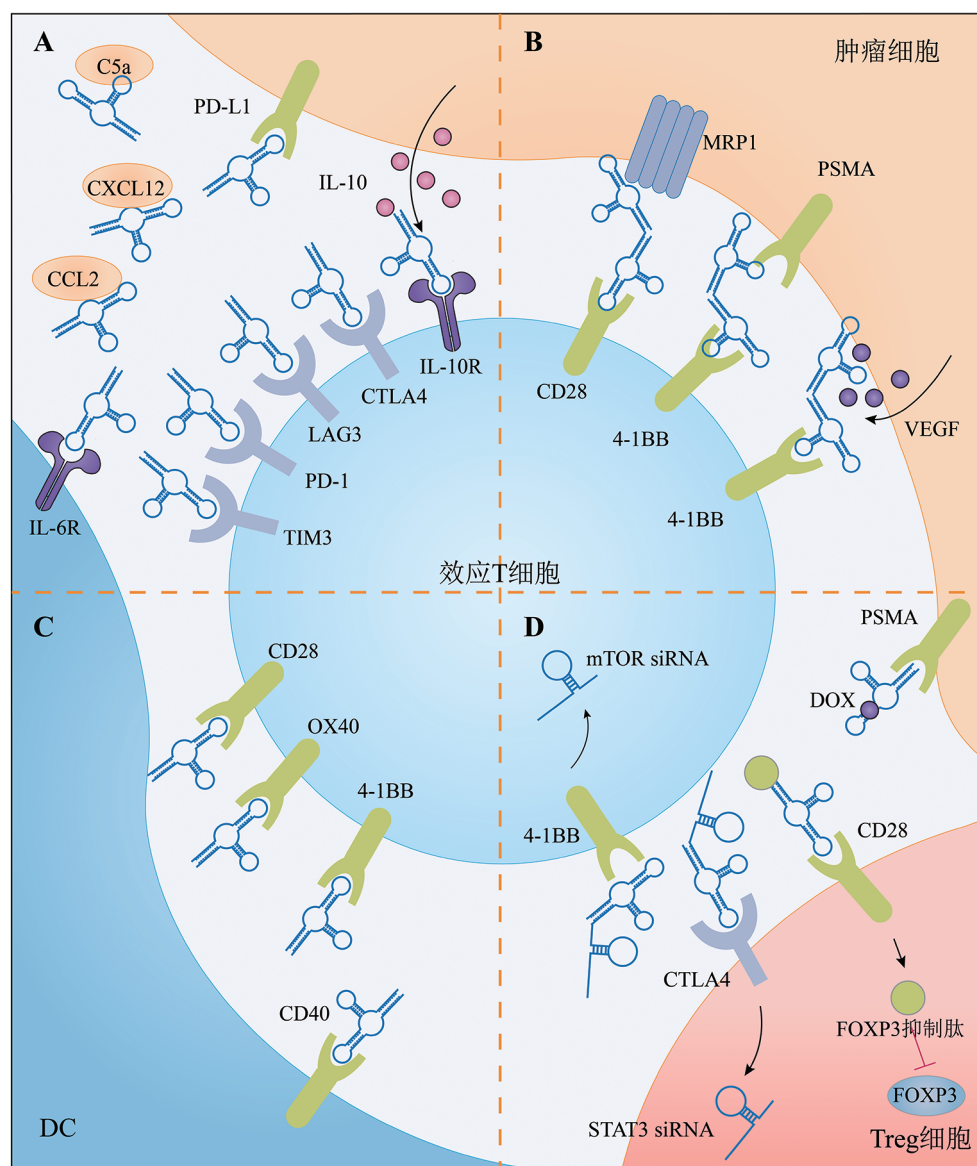
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81971499)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81971499)

[作者简介] 赵启航(1996—),男,硕士生,主要从事天然免疫分子机制的研究,E-mail: qihangzhao1996@163.com

[通信作者] 王品(WANG Pin, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事天然免疫分子机制的研究,E-mail: wangp@immunol.org

适配体具有筛选周期短、成本低、适合低免疫原性抗原、工作浓度低、批次差异性小、放大工艺简单和稳定易保存等优点,与抗体相比,其组织穿透能力更强,热稳定性和化学稳定性更高,更容易进行化学修饰^[7]。

另外,适配体可以在体外固相合成,并且其可识别的靶点不局限于有免疫原性的抗原。将适配体应用于肿瘤免疫治疗,主要包括以下几种策略(图1)。



A: 拮抗性适配体; B: 双特异性适配体; C: 激动型适配体; D: 连接靶向配体的适配体

图1 基于适配体的肿瘤免疫治疗策略及靶分子

1.1 适配体的设计方案

1.1.1 拮抗性适配体(antagonistic aptamer) 拮抗性适配体的目的是阻断受体与其配体的相互作用。目前研发的用于疾病治疗的多种适配体属于这一类,并且在临床试验阶段的适配体都是拮抗型的。在肿瘤免疫治疗中,首先应用的是靶向CTLA-4的适配体^[8]。CTLA-4是重要的免疫检查点,目前已经开发了多种靶向CTLA-4的小分子抑制剂、抗体以及拮抗性适配体。另外,IL-10是一种在肿瘤微环境中产生的具有免疫抑制作用的细胞因子,其功能可通过

破坏其与IL-10受体(IL-10R)的相互作用而被阻断。为此,有研究团队^[9]设计了IL-10R拮抗剂型适配体,并发现该拮抗适配体确实可以增强T细胞的活化水平并促进抗肿瘤免疫介导的反应。此外,Spiegelmer公司研发的CXCL12抑制型适配体NOX-A12可以干扰慢性淋巴细胞白血病细胞的迁移并诱导化学增敏^[10]。一项临床试验^[11]已将NOX-A12与一种PD-1抑制剂派姆单抗联合用于治疗胰腺癌和结肠癌。同样,CCL2也被设计作为RNA适配体的靶标,用于肿瘤治疗^[12]。为了减少肿瘤中髓源性抑制细胞的浸润,

有研究^[13]表明,C5a过敏毒素趋化受体的适配体与PD-1抑制剂联合治疗可在KRAS驱动的肺癌小鼠模型中协同发挥作用,起到抗肿瘤的作用。与PD-1的机制类似,TIM3(CD366)和淋巴细胞活化基因3(lymphocyte activation gene-3,LAG3)是在耗竭状态的T细胞表面高表达的两个受体。在临床前小鼠模型中,通过靶向TIM3和LAG3的适配体来抑制T细胞中非重叠的免疫抑制途径,可以协同阻断这些免疫检查点,从而增强T细胞的活力^[14]。此外,PD-L1也是一个可行的拮抗性适配体靶标^[15]。

1.1.2 激动性适配体(agonistic aptamer) 参与免疫反应的大多数受体都需要配体-受体的相互作用和交联以启动信号转导级联,如第一活化信号主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex,MHC)和T细胞受体,第二活化信号CD40和CD40L等。由于受体的胞内结构域的接近和多聚化会引发胞内激活信号的产生,在此基础上,研究人员^[16]尝试设计适配体来促进两个或多个受体的相互作用,并使它们在细胞膜上紧密结合,从而起到活化信号通路的作用。因此开发了靶向共刺激分子4-1BB(TNFRSF9,CD137)的激动性适配体来模拟其二聚化,从而诱导T细胞活化,实验结果表明该适配体能够在体外激活CD8⁺T细胞,并在小鼠中显示出与4-1BB单克隆抗体相似的抗肿瘤作用。此外,也有研究^[17]设计了OX40(也称TNFRSF4)的适配体,在小鼠模型中同样起到了活化T细胞的作用。

1.1.3 双特异性适配体(bispecific aptamer) 由于适配体可以多聚化,并且该特征使得多聚体可以被设计具有双特异性,即可以同时识别并作用于不同的靶分子,因此已经设计出多种双特异性适配体。研究^[18]发现,双特异性适配体可以增强免疫刺激的能力,从而改善治疗效果。例如,4-1BB对于激活肿瘤浸润T淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte,TIL)至关重要,但注射4-1BB激动剂抗体可能会引起严重的肝脏炎症。若将4-1BB激动性适配体与PSMA拮抗性适配体结合起来,即设计双特异性适配体,则在提高其靶效应的同时降低了副作用,结果证实在两种表达PSMA的肿瘤模型中,PSMA-4-1BB双特异性适配体比单克隆4-1BB激动性抗体具有更好的疗效。同时,该方法也已应用于另一种双特异性适配体,该适配体在与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)结合的同时还与4-1BB结合^[19]。由于大量的VEGF会在被放射线照射的组织中释放,因此该方法有望与放射疗法联用。此外,为了靶向在侵袭性肿瘤中广泛表达的分子,例如多药耐药蛋白1(multidrug resistance protein 1,MRP1),有研究人员^[20]开发了一种双特异性适配体

(MRP1-CD28),从而起到靶向高表达MRP1的肿瘤干细胞的作用。

1.1.4 连接靶向配体的适配体 适配体可以与小干扰RNA(siRNA)偶联以靶向抑制细胞中的某些信号通路。研究^[21]证实,相比传统的siRNA治疗,此种适配体偶联的siRNA能够起到更好的抗肿瘤作用。最早报道的适配体-siRNA偶联物是将PSMA适配体偶联PLK1 siRNA,该适配体可应用于治疗前列腺癌。此外,也有研究^[22]将CTLA-适配体偶联抗STAT3 siRNA来抑制STAT3的活性。另一项研究^[23]通过将转录因子FoxP3抑制肽与靶向CD28的适配体偶联来抑制调节性T(regulatory T,Treg)细胞的活性,从而诱导Treg细胞免疫抑制功能的失活来提高肿瘤免疫疗法的效果。此外,靶向4-1BB的适配体也被设计偶联靶向mTOR通路和IL-2R信号转导的siRNA,从而诱导T细胞的活化^[24]。

另一方面,一些小分子化学药物可以通过与RNA适配体偶联来特异性靶向肿瘤细胞。例如,多柔比星(doxorubicin,DOX)可以结合靶向PSMA的适配体,以确保DOX特异性靶向前列腺癌细胞^[25]。值得注意的是,诸如适配体-脂质体、适配体-聚合物纳米颗粒、适配体-金属颗粒和适配体-树状大分子载体系统等几种设计策略可能会起到更好的药物递送效果,这将为肿瘤的免疫治疗提供更多的方案^[26]。

1.2 适配体的临床应用

目前有一些适配体已经进入临床试验阶段。就药代动力学而言,适配体的最大半衰期为24~48 h,而抗体通常为2~3周。靶向VEGF C5的培加他尼(pegaptanib)是首批应用于临床的适配体,其通过眼内注射治疗与年龄相关的黄斑变性,并且培加他尼已获得美国食品和药物管理局(FDA)的上市批准。虽然目前已经有一些用于肿瘤诊断或示踪的适配体,例如靶向结直肠癌和膀胱癌的适配体已进入临床试验阶段,但将适配体与其他肿瘤免疫疗法联用,以用于临床治疗的尝试更加令人期待。

适配体与抗体相比具有几个临床优势。首先,适配体更安全,即可以设计有效的反义拮抗剂。当临床试验中突然出现副作用时,反义拮抗剂的应用可以降低适配体的风险。第二,便于批量生产。适配体可以通过化学方法合成,这就避免了使用细胞反应器或发酵罐,也就意味着降低了培养和生物生产的复杂性,从而便于生产监管以获得稳定的有效制剂。第三,多样性高。适配体可以非常容易地与不同类型的治疗工具化学偶联,例如化学药物,多肽或siRNA,以实现特定的靶向递送。第四,免疫原性低。与蛋白质药物相比,适配体具有较低的免疫原

性。值得注意的是,与抗体等生物大分子相比,适配体的分子量较小,其特征可能有益于实体瘤的治疗。这些特征为将适配体应用于临床肿瘤免疫治疗提供了基础。

虽然适配体有诸多优势,但是迄今为止,包括抗肿瘤领域,适配体的商业化应用还未真正广泛开展起来。事实上,适配体抗肿瘤仍需要改善几个方面。例如,在人工体系中完成的SELEX过程不同于生理环境,因此筛选获得的适配体的亲和力不如抗体的亲和力高。另一方面,有研究^[27]报道,适配体很容易在血液中降解,这是由于核酸适配体的分子量比较小,且体内广泛存在RNase,因此容易在体内被快速清除。为了解决上述问题,改进筛选技术以获得更高亲和力的适配体,添加化学修饰^[28]或选择合适的递送载体可能成为可行的策略^[29]。例如引入新的筛选技术,包括基于组织的SELEX和*in vivo*-SELEX可以在与病理条件更相似的环境中筛选适配体^[30]。此外,插入新的化学修饰或核苷酸修饰可以改善体内RNA适配体的稳定性。这些方法的应用可能有益于获得更有效的抗肿瘤适配体,并降低其成本。

此外,适配体与细胞疗法联合应用可能会获得更好的治疗效果。例如,有研究^[31]表明嵌合抗原受体基因修饰T(chimeric antigen receptor engineered T, CAR-T)细胞靶向递送PD-1阻断性scFv可以增强体内抗肿瘤功效,且该策略产品ICTCAR014已被美国FDA批准获得临床试验许可。相似的思路,可以设计将适配体在CAR-T细胞或其他工程化细胞中表达,从而起到增强该工程细胞抗肿瘤能力的作用。

2 mRNA肿瘤疫苗

疫苗是人类医学史上最重要的发明之一。由于疫苗的广泛应用,天花病毒已被彻底清除,在疫苗被发明后,诸如结核病、狂犬病等重大传染病的发病率已大大降低^[32]。这些针对病原体的常规疫苗方法主要包括灭活疫苗、减毒活疫苗、类毒素、亚单位疫苗和肽疫苗等,这些策略可以有效地提供针对各种传染病的持久保护。但是,基于靶向病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)的这类经典疫苗制备方法对于防治非传染性疾病(例如肿瘤)而言并不理想。如今,mRNA疫苗有望成为传统疫苗的替代品应用于治疗肿瘤^[33]。值得注意的是,mRNA疫苗也被设计用于对抗新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19),并已经在2020年底获批上市^[34]。

mRNA疫苗治疗肿瘤的原理主要为利用外源的mRNA表达肿瘤相关抗原,从而刺激活化免疫细胞,

并进一步产生获得性免疫来特异性杀灭肿瘤细胞。早期的研究已经证实了外源mRNA可以体内的有效表达。与其他传染病疫苗类似,RNA肿瘤疫苗的理论核心是刺激树突状细胞(dendritic cell, DC)并在体内产生免疫记忆,从而诱导免疫系统识别并清除肿瘤细胞。值得指出的是,mRNA疫苗可以在体外合成,其具有快速、相对廉价且可大规模生产的优点。随着近年分子生物学、细胞生物学和免疫学的不断发展,mRNA已显示出开发肿瘤疫苗的巨大潜力。此外,mRNA疫苗也已经尝试应用于其他非感染性疾病的防治研究,如2021年的一项研究^[35]尝试设计mRNA疫苗用于治疗多发性硬化等自身免疫病,该mRNA疫苗可以通过诱导Treg细胞的分化,以及促进其表达PD-1和CTLA-4等免疫抑制性受体来抑制Th1、Th17等细胞的功能。

2.1 mRNA肿瘤疫苗的设计与优化策略

目前,多种策略已经被开发用来优化mRNA疫苗的药代动力学参数,以增强其体内表达和稳定性。研究表明,通过在mRNA序列中添加修饰或特定的核苷酸序列可以增强mRNA疫苗的半衰期和表达水平。例如,可以通过优化序列或密码子来减少先天免疫系统的激活并增加蛋白质翻译^[36]。另外,可通过在5'非翻译区(UTR)、3'-UTR和Poly(A)尾部插入调控元件来稳定mRNA水平和蛋白质的翻译。而翻译水平和免疫原性也可以通过共表达翻译起始因子等来改变^[37]。值得注意的是,包括RNase III处理和快速蛋白质液相色谱(fast protein liquid chromatography, FPLC)纯化在内的分离和纯化技术的改进可以减少无关的免疫反应并提高翻译水平^[38]。尽管可以通过改变密码子序列或插入修饰的核苷酸来有效增强蛋白质的表达水平,但值得注意的是,这些核苷酸序列的变化也可能会影响RNA二级结构以及蛋白质折叠的准确性。

mRNA疫苗的免疫原性也是可以优化的重要方面。由于外源的mRNA和RNA副产物具有一定程度的免疫刺激作用,因此可以被位于细胞膜表面、内体和细胞质中的各种天然免疫受体识别,例如内体和细胞内蛋白RIG中的Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)3/7/8、RIG I和MDA5等,从而诱导天然免疫并产生I型干扰素(interferon- α , IFN- α)^[39-40]。天然免疫系统的激活在肿瘤疫苗接种中可能具有一些积极意义,即mRNA疫苗可以在某些情况下发挥佐剂的作用来刺激DC的成熟和活化,从而进一步诱导T细胞和B细胞介导的适应性免疫应答。但另一方面,天然免疫系统对mRNA的识别可能会导致mRNA编码抗原的表达受到抑制,这会对疫苗诱导

的适应性免疫反应产生不利影响。通过酶法合成的 mRNA 将产生少量的双链 RNA (dsRNA)。这些 dsRNA 作为经典的 PAMP, 可以被 TLR 等模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 识别。这些 mRNA 制剂中 dsRNA 污染会诱导产生大量 IFN- α , 导致 IFN 相关基因的上调以及蛋白激酶 R (protein kinase R, PKR) 和 2'-5'-寡腺苷酸合成酶的活化^[41], 从而分别导致翻译的抑制和 mRNA 的降解。使用纯化技术, 例如 FPLC 或高效液相色谱 (HPLC) 等可以有效地从 mRNA 样品中分离和去除 dsRNA。因此, 正确纯化 mRNA 疫苗对于增强蛋白质表达和避免天然免疫系统的不必要应答至关重要。同时, 本身作为一种 PAMP, mRNA 及其降解产物也可能通过激活 TLR7/8 导致 IFN 的产生。与未修饰的 mRNA 相比, 进行了修饰的 mRNA 在 DC 中可以具有更好的翻译效率。此外, 还可以通过添加佐剂来提高 mRNA 疫苗的有效性, 从而改善 mRNA 的免疫刺激性。

2.2 mRNA 肿瘤疫苗的递送系统

在体内选择有效的 mRNA 递送系统对于达到治疗阈值至关重要^[42]。因此, 需要采用一些物理或化学方法来改善其分布特性和表达效率。目前, 有两种基本的策略可用于递送 mRNA 肿瘤疫苗。一种策略是在体外将 mRNA 转染到 DC 中, 然后回输转染的细胞; 另一种是在某些载体的帮助下直接体内注射 mRNA。

2.2.1 体内注射 mRNA 肿瘤疫苗制剂

体内注射 mRNA 肿瘤疫苗的策略包括直接注射 naked-mRNA、利用物理方法 (基因枪, 电穿孔) 和化学介质 (如鱼精蛋白、阳离子脂质体和其他聚合物等)。有研究^[43]表明, 通过结内重复注射编码肿瘤相关抗原的 mRNA 进行免疫刺激可产生强大的 T 细胞反应并增加生存时间, 但通常这种 naked-mRNA 方法的效率较低。另外, 电穿孔法也已用于 mRNA 的疫苗接种^[44]。在过去的几年中, 阳离子脂质体和聚合物已广泛用作生命科学和转化医学研究中 mRNA 转染的工具^[45]。得益于 20 世纪末 21 世纪初对 siRNA 的体内给药研究的大量投入, 阳离子脂质体和聚合物的应用已经有了相当多的经验^[46-47]。例如, 2017 年的一项研究^[48]表明, 将抗体样的 RNA 纳米颗粒附着在外泌体上可以有效地将调控 RNA (如 siRNA 等) 特异性地递送给肿瘤细胞。目前, 脂质体纳米颗粒 (lipid nanoparticle, LNP) 已成为最常见的 RNA 递送工具之一。LNP 通常由四个部分组成: 可离子化的阳离子脂质体——组成约 100 nm 的结构并介导 mRNA 进入靶细胞; 脂质体连接的聚乙烯醇——可以延长制剂的半衰期; 可稳定装配结构的胆固醇以及构成脂质体双分子层

的磷脂。相较于其他方法、阳离子脂质体和聚合物方法的效率较高, 且依从性更好^[49]。此外, mRNA 肿瘤疫苗的体内注射可以与 CAR-T 等细胞疗法联用。如最近的一项研究^[50]设计了靶向 CLDN6, 一种广泛表达在多种肿瘤细胞表面的癌胚细胞抗原的 CAR-T 系统。为了增强对肿瘤细胞的感应, 研究人员设计了一种脂质体介质的 mRNA 疫苗, 用于将 CAR 抗原输送至淋巴区室, 从而起到有效活化 CAR-T 细胞的效果。

2.2.2 体外转染 DC

DC 的活化是对肿瘤识别并介导适应性细胞免疫对肿瘤进行杀伤的关键环节^[51]。一方面, 它通过内吞作用和蛋白水解作用加工抗原, 然后将抗原提呈至表达 MHC 的 CD8⁺ 和 CD4⁺ T 细胞以启动适应性免疫反应^[52]; 另一方面, DC 可能会向 B 细胞提呈抗原以引发抗体的合成^[53]。有研究^[54]证实, RNA 刺激能够通过天然免疫信号途径增强 DC 的抗肿瘤应答。例如, 利用抗病毒防御机制诱导 IFN 表达然后触发更强的效应 T 细胞和记忆 T 细胞应答, 从而提高肿瘤免疫治疗的效果。

尽管 DC 通过内吞途径摄取裸露的 mRNA, 但使用电穿孔、脂质体转染等方法能够增加其转染效率^[55]。使用电穿孔方法, mRNA 分子可以利用由高强度电场引起的细胞膜通透性的瞬时增加来穿过细胞膜。同时, 有研究^[56-57]发现将多种编码共刺激分子的 mRNA 转染入 DC, 例如 CD83、OX40 和 4-1BB 配体可以增强 DC 的免疫刺激活性。此外, 佐剂可与编码抗原的 mRNA 联合应用^[58]。在 mRNA 转染完成后, RNA 转染的 DC 将重新注入患者的血液中以启动其免疫反应。作为细胞治疗的一种形式, DC 的体外转染可精确控制细胞靶标和转染效率, 在治疗效果方面相比直接注射具备明显的优势。但其存在价格昂贵、过程复杂、针对不同的患者需要个性化治疗方案等问题, 因此距离开发为成熟的药物仍然存在一些问题有待进一步解决。

2.3 mRNA 肿瘤疫苗的临床展望

mRNA 肿瘤疫苗领域正在迅速发展。基于相关临床前研究的积累, 近几年已经开展了多项 mRNA 肿瘤疫苗的临床试验。mRNA 肿瘤疫苗有望成为针对细胞免疫相对较弱、不产生 IFN- γ 、低肿瘤相关效应 T 细胞表达的肿瘤患者的有效治疗工具。mRNA 肿瘤疫苗的另一个优点是相对安全, 因为其不会插入到患者的核基因组, 也不会导致基因重组。

一些 mRNA 肿瘤疫苗制剂已处于临床试验阶段。mRNA-4157 由 Moderna 公司设计, 这是一种编码 20 种不同抗原的新抗原疫苗, 可用于治疗某些实体瘤。同时, mRNA-4157 与派姆单抗联合使用, 用于

治疗高复发风险的黑色素瘤患者。此外,该公司的 mRNA-2416、2752、5671 等 mRNA 疫苗正在接受针对非小细胞肺癌、胰腺癌、大肠癌以及其他实体瘤的 I 期临床试验。值得注意的是,多家公司和研究机构已将重点放在个性化 mRNA 疫苗上,即根据患者的各种肿瘤特征(包括肿瘤抗原的表达、RNA-seq 数据、耐药性、免疫细胞表达谱和特异性抗原等)设计个性化的高敏感性 mRNA 肿瘤疫苗。例如,由罗氏公司开发的个体化肿瘤疫苗 RO7198457 被设计用于治疗局部晚期肿瘤或转移性实体瘤的患者。RO7198457 也已经开展了与其他疗法,包括化疗药和靶向药物(如阿特珠单抗、派姆单抗和其他 PD-L1 抑制剂等)联合应用的试验。

体外将 mRNA 转染到 DC 中的方法受到了更多的关注。有趣的是,将 mRNA 肿瘤疫苗与其他类型的抗肿瘤疗法(例如手术、化疗、放疗和 ICI)结合使用可以更有效地激活抗原特异性效应 T 细胞,因此联合治疗可能成为克服肿瘤免疫抑制的理想解决方案。多项临床试验^[59]证实,mRNA 疫苗可以增加 TIL 的数量,而 ICI 可以减少 TIL 的耗竭,二者可显著改善恶性肿瘤患者的预后。因此,有理由相信 mRNA 肿瘤疫苗与多种疗法联合应用可以获得更好的肿瘤治疗效果。

3 RNA 溶瘤病毒

溶瘤病毒是一类可以特异性感染肿瘤细胞并诱导肿瘤细胞死亡、又相对不损害正常细胞的病毒。早在 20 世纪初,人们就已经发现某些病毒感染可以起到治疗肿瘤的效果^[60],但其应用一直受到安全性不可靠和靶向性低等问题的阻碍。随着对免疫学理解的深入和分子生物学技术的发展,溶瘤病毒再次展现出活力,并在体内外实验和临床试验中被证明可有效、可控地感染并清除肿瘤细胞^[61]。根据病毒遗传物质的不同,溶瘤病毒可被分为 DNA 病毒和 RNA 病毒。其中,目前研究与运用较多的包括单纯疱疹病毒、腺病毒等 DNA 病毒和柯萨奇病毒等 RNA 病毒。进入 21 世纪以来,现在的研究者更倾向于对 DNA 病毒和 RNA 病毒的基因组进行改造,使其更安全、有效地杀灭肿瘤细胞^[62]。

3.1 溶瘤病毒抗肿瘤和免疫调节机制

溶瘤病毒可通过直接和间接两个方面起到清除肿瘤细胞的作用。直接作用是指病毒自身对肿瘤细胞的毒性作用,即通过病毒颗粒的毒性作用来促进肿瘤细胞的凋亡、坏死和裂解^[63];间接作用是指病毒通过激活某些免疫信号通路,从而诱导天然免疫系统和适应性免疫系统杀灭肿瘤细胞^[64]。当肿瘤细胞

被病毒感染裂解时,一方面,多种肿瘤抗原将被释放,这些抗原将激活先天免疫信号;另一方面,抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)将介导效应 T 细胞或 NK 细胞的激活,从而进一步杀灭肿瘤细胞。此外,溶瘤病毒感染还将诱导某些细胞因子的分泌,并在免疫系统的作用下促进肿瘤细胞死亡^[65]。值得指出的是,免疫系统可以同时攻击肿瘤和病毒^[66],因此适用于临床的溶瘤病毒应在肿瘤患者体内寻求抗肿瘤免疫应答和抗病毒免疫应答之间的平衡。

在正常细胞中,多条天然免疫信号通路可以识别和清除病原性病毒颗粒,例如病毒 DNA 或病毒 RNA^[67]。这些 RNA 分子可通过活化细胞内 TLR、DNA sensor 和 RNA sensor 以及 IFN 的局部释放来刺激这些通路。例如 TLR 或 RIG1/MDA5-MAVS 信号可以激活宿主细胞的抗 RNA 病毒天然免疫应答,在增强局部 IFN 释放的同时,激活可以识别 dsRNA 和其他病毒成分的 PKR,从而诱导靶细胞的程序性死亡和病毒的降解与清除。然而,单一的天然免疫反应不足以清除肿瘤细胞。为了提高病毒复制水平以诱导更强的适应性免疫反应,研究者试图改造溶瘤病毒,使其可以利用肿瘤免疫逃逸途径来操纵肿瘤细胞中不同的异常信号转导因子来阻断细胞凋亡,从而为病毒提供更多的时间来完成其生命周期。随着病毒复制导致的肿瘤细胞裂解,将导致新的肿瘤抗原的释放。而这些新抗原可能被肿瘤局部的 APC 吸收,从而引发针对新抗原的适应性免疫反应^[68]。

3.2 RNA 溶瘤病毒优化策略

RNA 病毒是溶瘤病毒的一个主要研究方向,例如柯萨奇病毒,一种常见的单链 RNA 肠病毒。除直接裂解肿瘤细胞外,有研究^[69]发现柯萨奇病毒可增强对肿瘤的天然免疫和适应性免疫应答,其机制是包括 HMGB1 在内的多种 DAMP 可以被释放并激活天然免疫信号通路,从而增加 IFN- α 的释放。先前的一些临床试验初步显示了柯萨奇病毒对黑色素瘤的治疗活性。但另一方面,由于部分被免疫的人可能在治疗前就已在自然环境中感染过柯萨奇病毒,无法获得有效的感染,因此这是柯萨奇病毒用作溶瘤病毒的潜在障碍。此外,新城疫病毒、呼肠孤病毒、麻疹病毒、脊髓灰质炎病毒和其他类型的 RNA 病毒也已被证明具有抗肿瘤作用^[70]。

血脑屏障是阻止溶瘤病毒治疗原发性脑瘤和脑转移瘤的关键限制因素,一些可以入侵中枢神经的病毒已经进入研究人员的视野。近来,有研究^[71]发现,寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)具有抗胶质瘤干细胞样细胞的溶瘤活性;同时研究^[71-72]发现,在感染 ZIKV 的成人脑脊液中可以检测到 ZIKV。因此,减毒的

ZIKV有潜力成为针对肿瘤细胞的疫苗,以治疗人类多形胶质母细胞瘤(glioblastoma,GBM)。ZIKV是黄病毒科的成员,研究^[74]已证实该病毒使用酪氨酸激酶受体AXL及其配体Gas6感染靶细胞。有趣的是,这些ZIKV感染相关关键蛋白在包括GBM细胞在内的肿瘤细胞中被检测到过度表达。因此,有可能通过将病毒基因与具有免疫调节功能的基因(例如趋化因子、细胞因子或IFN)相结合来修饰ZIKV,从而在未来实现对脑肿瘤的有效治疗^[75]。另一方面,工程化ZIKV的安全性是临床应用中需要解决的最关键的问题,这取决于大量的临床前研究,以进一步明确ZIKV的分子机制以及对其他器官的潜在影响。

根据天然病毒的特点,可以通过以下两种途径进行溶瘤病毒的工程改造。一是通过定向诱导进化来筛选改造病毒,即使用大量随机产生的重组前体病毒来生成特定的新病毒变体或血清型,然后通过一系列预先设计的筛选或诱导条件,如更高的肿瘤特异性或感染活性等,获得具有初步靶向性的病毒,随后再通过临床前模型或筛选条件进一步筛选获得具有所需治疗特性的溶瘤病毒。二是对病毒进行毒性衰减改造,例如通过基因编辑技术和DNA重组技术删除一些病毒基因或基因元件,以消除其对正常细胞的感染能力,从而增强溶瘤病毒的肿瘤特异性和安全性。此外,还可以通过修饰病毒外壳蛋白以增强靶向肿瘤细胞的能力,也可以通过病毒外壳的聚乙二醇化以及添加聚合物涂层以防止抗体结合和抗体诱导的病毒清除,还可以将病毒基因组的关键部分置于肿瘤特异性启动子(如hTERT)的控制之下,使其只能在肿瘤细胞中复制或转录,从而获得更高的靶向性和安全性。

3.3 RNA溶瘤病毒的临床展望

近年来,ICI、CAR-T细胞和DC治疗,以及肿瘤疫苗都在一定程度上取得了临床成功。为了提高疗效并使更多患者受益,设计合理的联合治疗策略尤为重要^[76]。其中,一个例子是PD-1抑制剂和CTLA-4抑制剂的联用可以使转移性黑色素瘤患者的治疗有效率提高约2倍^[77]。由于肿瘤的异质性,有必要设计多种联合用药方案。虽然这些策略可以在一定程度上达到较好的治疗效果,但通常药物的毒性和治疗费用也会增加。笔者认为溶瘤病毒可能为解决这些问题提供可行的方案。一方面,溶瘤病毒可单独用于抗肿瘤治疗,例如设计仅可在肿瘤中复制的溶瘤病毒,从而激活自身抗肿瘤免疫系统。另一方面,它也可以与其他免疫疗法联用以达到更好的治疗效果。例如,与抗肿瘤化学药物或ICI的联合疗法^[78];溶瘤病毒T-VEC和靶向黑色素瘤的PD-1抗体

派姆单抗的联用获得了62%的肿瘤缓解率,其中33%是完全缓解^[79];溶瘤病毒与4-1BB单克隆抗体联合治疗可明显增强对非霍奇金B细胞淋巴瘤的治疗效果^[80]。

虽然溶瘤病毒的抗肿瘤机制和安全性尚不完全清楚,但值得强调的是,溶瘤病毒的应用将提供新的可行的抗肿瘤选择,尤其是对于那些伴随转移的实体瘤患者^[81]。同时,尽管仍需要更多的临床前研究,但人们不能忽视溶瘤病毒在与其他类型的免疫疗法联合应用方面的巨大潜力。

4 结 语

尽管RNA及其衍生体在抗肿瘤方面已展示出一些优势,但仍然存在成本高、治疗效果有限和安全性不稳定等缺点。通过将RNA工具与其他治疗方法(例如ICI或细胞疗法)结合使用等策略的应用可能使其具有更好的临床应用潜力。但是,目前仍不能确定RNA工具是否可以成为治疗肿瘤的主要手段,抑或仅仅适合作为一种辅助性治疗。同样值得注意的是,虽然ICI已被证实在某些肿瘤(例如黑色素瘤和淋巴瘤)中具有较高的缓解率,但在针对大多数实体瘤的治疗中效果仍不理想,其中的一个重要原因在于实体瘤中普遍存在的肿瘤特异性T细胞浸润低和T细胞耗竭的状况。为了解决这一问题,将适配体、溶瘤病毒等RNA制剂与ICI联用以驱动肿瘤特异性T细胞在肿瘤微环境中的浸润和富集或将成为可行的策略。正如已有研究^[82]表明,肿瘤疫苗与CAR-T细胞疗法联合使用能够获得更好的抗肿瘤效果。总之,尽管仍存在诸多障碍,但RNA仍具有巨大的潜力,有望在未来成为肿瘤免疫治疗的得力工具。

[参考文献]

- [1] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [2] 顾炎,曹雪涛. 肿瘤免疫与免疫治疗: 机遇与挑战[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(1): 1-10. DOI: 10.3872/j. issn. 1007-385x.2021.01.001.
- [3] ZHOU J H, ROSSI J. Aptamers as targeted therapeutics: current potential and challenges[J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16(6): 440. DOI:10.1038/nrd.2017.86.
- [4] ZHONG Y, ZHAO J Y, LI J Z, et al. Advances of aptamers screened by Cell-SELEX in selection procedure, cancer diagnostics and therapeutics[J]. Anal Biochem, 2020, 598: 113620. DOI:10.1016/j.ab.2020.113620.
- [5] SPÖRING M, FINKE M, HARTIG J S. Aptamers in RNA-based switches of gene expression[J]. Curr Opin Biotechnol, 2020, 63: 34-40. DOI:10.1016/j.copbio.2019.11.008.

- [6] LI L, XU S J, YAN H, et al. Nucleic acid aptamers for molecular diagnostics and therapeutics: advances and perspectives[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60(5): 2221-2231. DOI: 10.1002/anie.202003563.
- [7] PASTOR F, BERRAONDO P, ETXEBERRIA I, et al. An RNA toolbox for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(10): 751-767. DOI:10.1038/nrd.2018.132.
- [8] WALDMAN A D, FRITZ J M, LENARDO M J. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice [J/OL]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(11): 651-668[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7238960/>. DOI: 10.1038/s41577-020-0306-5.
- [9] FU Z Y, XIANG J. Aptamers, the nucleic acid antibodies, in cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2793. DOI: 10.3390/ijms21082793.
- [10] HOELLENRIEGEL J, ZBORALSKI D, MAASCH C, et al. The Spiegelmer NOX-A12, a novel CXCL12 inhibitor, interferes with chronic lymphocytic leukemia cell motility and causes chemosensitization[J/OL]. *Blood*, 2014, 123(7): 1032-1039[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4123413/>. DOI:10.1182/blood-2013-03-493924.
- [11] ZBORALSKI D, HOEHLIG K, EULBERG D, et al. Increasing tumor-infiltrating T cells through inhibition of CXCL12 with NOX-A12 synergizes with PD-1 blockade[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(11): 950-956. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-16-0303.
- [12] CITRO A, PELLEGRINI S, DUGNANI E, et al. CCL2/MCP-1 and CXCL12/SDF-1 blockade by L-aptamers improve pancreatic islet engraftment and survival in mouse[J]. *Am J Transplant*, 2019, 19(11): 3131-3138. DOI:10.1111/ajt.15518.
- [13] AJONA D, ORTIZ-ESPINOSA S, MORENO H, et al. A combined PD-1/C5a blockade synergistically protects against lung cancer growth and metastasis[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(7): 694-703. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-1184.
- [14] GEFEN T, CASTRO I, MUHAREMAGIC D, et al. A TIM-3 oligonucleotide aptamer enhances T cell functions and potentiates tumor immunity in mice[J/OL]. *Mol Ther*, 2017, 25(10): 2280-2288 [2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5628791/>. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.06.023.
- [15] HUANG M J, YANG J J, WANG T, et al. Homogeneous, low-volume, efficient, and sensitive quantitation of circulating exosomal PD-L1 for cancer diagnosis and immunotherapy response prediction [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59(12): 4800-4805. DOI: 10.1002/anie.201916039.
- [16] EISENBARTH S C. Dendritic cell subsets in T cell programming: location dictates function[J/OL]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(2): 89-103[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7755085/>. DOI:10.1038/s41577-018-0088-1.
- [17] SOLDEVILLA M M, VILLANUEVA H, BENDANDI M, et al. 2-fluoro-RNA oligonucleotide CD40 targeted aptamers for the control of B lymphoma and bone-marrow aplasia[J]. *Biomaterials*, 2015, 67: 274-285. DOI:10.1016/j.biomaterials.2015.07.020.
- [18] SCHRAND B, BEREZHNOY A, BRENNEMAN R, et al. Targeting 4-1BB costimulation to the tumor stroma with bispecific aptamer conjugates enhances the therapeutic index of tumor immunotherapy [J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(9): 867-877[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5502823/>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0007.
- [19] SCHRAND B, VERMA B, LEVAY A, et al. Radiation-induced enhancement of antitumor T-cell immunity by VEGF-targeted 4-1BB costimulation[J/OL]. *Cancer Res*, 2017, 77(6): 1310-1321 [2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7549621/>. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-16-2105.
- [20] SOLDEVILLA M M, VILLANUEVA H, CASARES N, et al. MRP1-CD28 bi-specific oligonucleotide aptamers: target costimulation to drug-resistant melanoma cancer stem cells[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(17): 23182-23196[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5029619/>. DOI:10.18632/oncotarget.8095.
- [21] EILERS A, WITT S, WALTER J. Aptamer-modified nanoparticles in medical applications[J]. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2020, 174: 161-193. DOI:10.1007/10_2020_124.
- [22] HERRMANN A, PRICEMAN S J, SWIDERSKI P, et al. CTLA4 aptamer delivers STAT3 siRNA to tumor-associated and malignant T cells[J/OL]. *J Clin Invest*, 2014, 124(7): 2977-2987[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4071407/>. DOI: 10.1172/JCI73174.
- [23] LOZANO T, SOLDEVILLA M M, CASARES N, et al. Targeting inhibition of Foxp3 by a CD28 2'-Fluoro oligonucleotide aptamer conjugated to P60-peptide enhances active cancer immunotherapy[J]. *Biomaterials*, 2016, 91: 73-80. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.03.007.
- [24] RAJAGOPALAN A, BEREZHNOY A, SCHRAND B, et al. Aptamer-targeted attenuation of IL-2 signaling in CD8⁺ T cells enhances antitumor immunity[J/OL]. *Mol Ther*, 2017, 25(1): 54-61 [2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5363184/>. DOI:10.1016/j.ymthe.2016.10.021.
- [25] BAGALKOT V, FAROKHZAD O C, LANGER R, et al. An aptamer-doxorubicin physical conjugate as a novel targeted drug-delivery platform[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2006, 45(48): 8149-8152. DOI:10.1002/anie.200602251.
- [26] WU Y R, SEFAH K, LIU H P, et al. DNA aptamer-micelle as an efficient detection/delivery vehicle toward cancer cells[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(1): 5-10[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2806697/>. DOI: 10.1073/pnas.0909611107.
- [27] ZHANG Q, CAO X T. Epigenetic regulation of the innate immune response to infection[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(7): 417-432. DOI:10.1038/s41577-019-0151-6.
- [28] ALI M H, ELSHERBINY M E, EMARA M. Updates on aptamer research[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10): 2511. DOI: 10.3390/ijms20102511.
- [29] JAYARAMAN M, ANSELL S M, MUI B L, et al. Maximizing the potency of siRNA lipid nanoparticles for hepatic gene silencing in vivo [J/OL]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51(34): 8529-8533[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3470698/>. DOI: 10.1002/anie.201203263.
- [30] CHENG C S, CHEN Y H, LENNOX K A, et al. In vivo select for identification of Brain-penetrating aptamers[J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2013, 2: e67[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3564417/>. DOI:10.1038/mtna.2012.59.
- [31] RAFIQ S, YEKU O O, JACKSON H J, et al. Targeted delivery of a

- PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy in vivo[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847-856[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6126939/>. DOI: 10.1038/nbt.4195.
- [32] MAO H H, CHAO S B. Advances in vaccines[J]. *Adv Biochem Eng*, 2020, 171: 155-188. DOI:10.1007/10_2019_107.
- [33] PARDI N, HOGAN M J, PORTER F W, et al. mRNA vaccines – a new era in vaccinology[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(4): 261-279[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5906799/>. DOI:10.1038/nrd.2017.243.
- [34] JEYANATHAN M, AFKHAMIS S, SMAILL F, et al. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies[J/OL]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(10): 615-632[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7472682/>. DOI:10.1038/s41577-020-00434-6.
- [35] KRIENKE C, KOLB L, DIKEN E, et al. A noninflammatory mRNA vaccine for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *Science*, 2021, 371(6525): 145-153. DOI: 10.1126/science.aay3638.
- [36] SIDDIQUI N, SONENBERG N. Signalling to eIF4E in cancer[J/OL]. *Biochem Soc Trans*, 2015, 43(5): 763-772[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4613458/>. DOI: 10.1042/BST20150126.
- [37] THESS A, GRUND S, MUI B L, et al. Sequence-engineered mRNA without chemical nucleoside modifications enables an effective protein therapy in large animals[J/OL]. *Mol Ther*, 2015, 23(9): 1456-1464 [2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4817881/>. DOI:10.1038/mt.2015.103.
- [38] KIM J, EYGERIS Y, GUPTA M, et al. Self-assembled mRNA vaccines[J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 170: 83-112[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7837307/>. DOI:10.1016/j.addr.2020.12.014.
- [39] BUHR F, JHA S, THOMMEN M, et al. Synonymous codons direct cotranslational folding toward different protein conformations[J/OL]. *Mol Cell*, 2016, 61(3): 341-351[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4745992/>. DOI: 10.1016/j.molcel.2016.01.008.
- [40] SCHWARTZ S, BERNSTEIN D A, MUMBACH M R, et al. Transcriptome-wide mapping reveals widespread dynamic-regulated pseudouridylation of ncRNA and mRNA[J/OL]. *Cell*, 2014, 159(1): 148-162[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4180118/>. DOI:10.1016/j.cell.2014.08.028.
- [41] ANDERSON B R, MURAMATSU H, JHA B K, et al. Nucleoside modifications in RNA limit activation of 2'-5'-oligoadenylate synthetase and increase resistance to cleavage by RNase L[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(21): 9329-9338[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3241635/>. DOI: 10.1093/nar/gkr586.
- [42] TANJI H, OHTO U, SHIBATA T, et al. Toll-like receptor 8 senses degradation products of single-stranded RNA[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(2): 109-115. DOI:10.1038/nsmb.2943.
- [43] ZHANG Z K, OHTO U, SHIBATA T, et al. Structural analysis reveals that toll-like receptor 7 is a dual receptor for guanosine and single-stranded RNA[J]. *Immunity*, 2016, 45(4): 737-748. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.09.011.
- [44] DRAPPIER M, MICHELIS T. Inhibition of the OAS/RNase L pathway by viruses[J/OL]. *Curr Opin Virol*, 2015, 15: 19-26[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7185432/>. DOI:10.1016/j.coviro.2015.07.002.
- [45] PARDI N, HOGAN M J, WEISSMAN D. Recent advances in mRNA vaccine technology[J]. *Curr Opin Immunol*, 2020, 65: 14-20. DOI:10.1016/j.coi.2020.01.008.
- [46] RILEY R S, JUNE C H, LANGER R, et al. Delivery technologies for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(3): 175-196. DOI:10.1038/s41573-018-0006-z.
- [47] SAHIN U, DERHOVANESEAN E, MILLER M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 222-226. DOI:10.1038/nature23003.
- [48] CHEN X H, MANGALA L S, RODRIGUEZ-AGUAYO C, et al. RNA interference-based therapy and its delivery systems[J/OL]. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37(1): 107-124[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5898634/>. DOI: 10.1007/s10555-017-9717-6.
- [49] KANASTY R, DORKIN J R, VEGAS A, et al. Delivery materials for siRNA therapeutics[J]. *Nat Mater*, 2013, 12(11): 967-977. DOI: 10.1038/nmat3765.
- [50] PI F M, BINZEL D W, LEE T J, et al. Nanoparticle orientation to control RNA loading and ligand display on extracellular vesicles for cancer regression[J/OL]. *Nat Nanotechnol*, 2018, 13(1): 82-89 [2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5762263/>. DOI:10.1038/s41565-017-0012-z.
- [51] PARDI N, TUYISHIME S, MURAMATSU H, et al. Expression kinetics of nucleoside-modified mRNA delivered in lipid nanoparticles to mice by various routes[J/OL]. *J Control Release*, 2015, 217: 345-351[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4624045/>. DOI:10.1016/j.jconrel.2015.08.007.
- [52] REINHARD K, RENGSTL B, OEHM P, et al. An RNA vaccine drives expansion and efficacy of claudin-CAR-T cells against solid tumors[J]. *Science*, 2020, 367(6476): 446-453. DOI: 10.1126/science.aay5967.
- [53] WCULEK S K, CUETO F J, MUJAL A M, et al. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(1): 7-24. DOI:10.1038/s41577-019-0210-z.
- [54] QIAN C, CAO X. Dendritic cells in the regulation of immunity and inflammation[J]. *Semin Immunol*, 2018, 35: 3-11. DOI:10.1016/j.smim.2017.12.002.
- [55] KRANZ L M, DIKEN M, HAAS H, et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy[J]. *Nature*, 2016, 534(7607): 396-401. DOI: 10.1038/nature18300.
- [56] DIKEN M, KREITER S, SELMI A, et al. Selective uptake of naked vaccine RNA by dendritic cells is driven by macropinocytosis and abrogated upon DC maturation[J]. *Gene Ther*, 2011, 18(7): 702-708. DOI:10.1038/gt.2011.17.
- [57] DANNULL J, NAIR S, SU Z, et al. Enhancing the immunostimulatory function of dendritic cells by transfection with mRNA encoding OX40 ligand[J]. *Blood*, 2005, 105(8): 3206-3213. DOI:10.1182/blood-2004-10-3944.
- [58] DE KEERSMAECKER B, HEIRMAN C, CORTHALS J, et al. The

- combination of 4-1BBL and CD40L strongly enhances the capacity of dendritic cells to stimulate HIV-specific T cell responses[J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 89(6): 989-999. DOI:10.1189/jlb.0810466.
- [59] MIAO L, ZHANG Y, HUANG L. mRNA vaccine for cancer immunotherapy[J/OL]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 41[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7905014/>. DOI: 10.1186/s12943-021-01335-5.
- [60] MOORE A E. Effect of inoculation of the viruses of influenza A and Herpes simplex on the growth of transplantable tumors in mice[J]. *Cancer*, 1949, 2(3): 516-524. DOI: 10.1002/1097-0142(194905)2:3516:aid-cnrcr2820020316>3.0.co;2-p.
- [61] KAUFMAN H L, KOHLHAPP F J, ZLOZA A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(9): 660[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7608450/>. DOI:10.1038/nrd.2016.178.
- [62] GORADEL N H, BAKER A T, ARASHKIA A, et al. Oncolytic virotherapy: Challenges and solutions[J]. *Curr Probl Cancer*, 2021, 45(1): 100639. DOI:10.1016/j.cupr.2020.100639.
- [63] RAJA J, LUDWIG J M, GETTINGER S N, et al. Oncolytic virus immunotherapy: future prospects for oncology[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 140[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6280382/>. DOI:10.1186/s40425-018-0458-z.
- [64] RUSSELL S J, PENG K W, BELL J C. Oncolytic virotherapy[J]. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(7): 658-670. DOI:10.1038/nbt.2287.
- [65] LUNDSTROM K. RNA viruses as tools in gene therapy and vaccine development[J/OL]. *Genes (Basel)*, 2019, 10(3): E189[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6471356/>. DOI: 10.3390/genes10030189.
- [66] CAO X T. Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(1): 35-50. DOI:10.1038/nri.2015.8.
- [67] TANIGUCHI K, KARIN M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(5): 309-324. DOI:10.1038/nri.2017.142.
- [68] GUO P, HUANG J, WANG L Y, et al. ICAM-1 as a molecular target for triple negative breast cancer[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(41): 14710-14715[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4205631/>. DOI:10.1073/pnas.1408556111.
- [69] BIAN H J, WILDEN H, FOURNIER P, et al. In vivo efficacy of systemic tumor targeting of a viral RNA vector with oncolytic properties using a bispecific adapter protein[J]. *Int J Oncol*, 2006, 29(6): 1359-1369.
- [70] SU K Y, BALASUBRAMANIAM V R M T. Zika virus as oncolytic therapy for brain cancer: myth or reality? [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 2715. DOI:10.3389/fmicb.2019.02715.
- [71] ZHU Z, GORMAN M J, MCKENZIE L D, et al. Zika virus has oncolytic activity against glioblastoma stem cells[J/OL]. *J Exp Med*, 2017, 214(10): 2843-2857[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5626408/>. DOI:10.1084/jem.20171093.
- [72] MEERTENS L, LABEAU A, DEJARNAC O, et al. Axl mediates ZIKA virus entry in human glial cells and modulates innate immune responses[J]. *Cell Rep*, 2017, 18(2): 324-333. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.045.
- [73] MLAKAR J, KORVA M, TUL N, et al. Zika virus associated with microcephaly[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(10): 951-958. DOI: 10.1056/NEJMoa1600651.
- [74] CARTEAUX G, MAQUART M, BEDET A, et al. Zika virus associated with meningoencephalitis[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(16): 1595-1596. DOI:10.1056/NEJMc1602964.
- [75] CHEN Q, WU J, YE Q, et al. Treatment of human glioblastoma with a live attenuated zika virus vaccine candidate[J/OL]. *mBio*, 2018, 9(5): e01683-e01618[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6143740/>. DOI:10.1128/mBio.01683-18.
- [76] SCHERWITZL I, HURTADO A, PIERCE C M, et al. Systemically administered sindbis virus in combination with immune checkpoint blockade induces curative anti-tumor immunity[J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2018, 9: 51-63[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6026467/>. DOI:10.1016/j.omto.2018.04.004.
- [77] WOLCHOK J D, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al. Overall survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma[J/OL]. *N Engl J Med*, 2017, 377(14): 1345-1356[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706778/>. DOI:10.1056/NEJMoa1709684.
- [78] RIBAS A, DUMMER R, PUZANOV I, et al. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral T cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy[J]. *Cell*, 2018, 174(4): 1031-1032. DOI:10.1016/j.cell.2018.07.035.
- [79] PUZANOV I, MILHEM M M, MINOR D, et al. Talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab in previously untreated, unresectable stage IIIb-IV melanoma[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(22): 2619-2626[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7189507/>. DOI:10.1200/JCO.2016.67.1529.
- [80] YU M J, SCHERWITZL I, OPP S, et al. Molecular and metabolic pathways mediating curative treatment of a non-Hodgkin B cell lymphoma by Sindbis viral vectors and anti-4-1BB monoclonal antibody[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 185[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6632218/>. DOI:10.1186/s40425-019-0664-3.
- [81] 宁小平, 虞淦军, 吴艳峰. 溶瘤病毒的肿瘤临床应用研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(6): 705-710. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2020.06.018.
- [82] MA L Y, DICHWALKAR T, CHANG J Y H, et al. Enhanced CAR-T cell activity against solid tumors by vaccine boosting through the chimeric receptor[J/OL]. *Science*, 2019, 365(6449): 162-168[2021-06-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6800571/>. DOI:10.1126/science.aav8692.

[收稿日期] 2021-06-07

[修回日期] 2021-10-10

[本文编辑] 党瑞山