

文章编号 1672-6634(2024)05-0132-12

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2024030009

# 编码免疫检查点抑制剂的溶瘤病毒： 免疫联合治疗新思路

李佳泽<sup>1</sup>, 孙涛<sup>1</sup>, 申健<sup>2</sup>

(1. 复旦大学药学院, 上海 201203; 2. 潍坊学院化学化工与环境工程学院, 山东 潍坊 261061)

**摘要** 近年来,继手术、放化疗、靶向治疗后,免疫疗法的兴起为肿瘤治疗领域带来了革命性的变化。在诸多肿瘤免疫治疗方法当中,免疫检查点抑制剂以其突出的肿瘤免疫逃逸抑制能力和临床生存获益,被认为最具发展潜力的肿瘤免疫疗法之一。然而,由肿瘤微环境塑造的低免疫原性,被认为是阻碍免疫治疗发展的关键因素。溶瘤病毒是一类能够选择性感感染癌细胞的病毒,能通过直接裂解杀死癌细胞,进而加强肿瘤抗原呈递,招募和激活特异性与先天性免疫细胞,将“冷肿瘤”转化为“热肿瘤”,使得 ICI 的作用基础(细胞毒性 T 细胞浸润增加),促进 ICI 发挥作用。在基因编辑技术高度发达的今天,经过基因改造,设计携带免疫检查点抑制剂分子编码基因的溶瘤病毒,使其在肿瘤当中特异性表达免疫检查点抑制剂,为溶瘤病毒和免疫检查点抑制剂的联合治疗开辟了新思路。这一新策略不仅能够发挥二者在免疫治疗机制层面相互补足的优势,还能够提高免疫检查点抑制剂在肿瘤微环境的特异性表达,规避其不良反应,开拓了以溶瘤病毒基因工程为基础的免疫治疗新思路。目前,该策略在总体生存期的提高、肿瘤生长的抑制、再次激发后记忆 T 细胞对肿瘤的排斥、T 细胞(CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup> T 细胞)的浸润提升等方面都呈现可期效益,并具备建立更持久的特异性免疫、灵活的免疫检查点抑制剂编码表达、医疗成本低等优点,具有广阔开发前景。然而,目前此类研究尚未进入临床阶段,且其本身在安全性、有效性等方面尚存缺陷,是值得深入挖掘研究肿瘤治疗策略之一。

**关键词** 溶瘤病毒;基因工程;免疫检查点抑制;免疫联合治疗

**中图分类号** R94

**文献标志码** A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



## Oncolytic Viruses Encoding Immune Checkpoint Inhibitors: a New Approach to Immunotherapy Combinatorial Treatment

LI Jiaze<sup>1</sup>, SUN Tao<sup>1</sup>, SHEN Jian<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Weifang University, Weifang 261061, China)

**Abstract** In recent years, following surgery, radiotherapy, chemotherapy, and targeted therapy, the rise

收稿日期: 2024-03-18

基金项目: 科技部“科技助力经济 2020”重点专项项目(山东省立项列表序号 16)资助。

通信作者: 孙涛, 男, 汉族, 博士, 副教授, 博士生导师, 教育部青年长江学者, 研究方向: 功能导向的分子设计靶向递药策略, 分子设计应用于靶向递药, E-mail: sunt@fudan.edu.cn; 申健, 男, 汉族, 博士, 讲师, 研究方向: 功能有机材料, E-mail: shenjian@wfu.edu.cn。

of immunotherapy has brought revolutionary changes to the field of cancer treatment. Oncolytic viruses are a class of viruses that can selectively infect cancer cells. They can kill cancer cells through direct lysis and also alter the tumor microenvironment (TME) by enhancing tumor antigen presentation, activating the body's innate and specific immunity. They are one of the emerging immunotherapies in recent years. Among the various cancer immunotherapy methods, immune checkpoint inhibitors, with their outstanding ability to suppress tumor immune evasion, are considered one of the most promising cancer immunotherapy approaches in terms of clinical survival benefits. However, the low immunogenicity shaped by the tumor microenvironment is believed to be a key factor hindering the development of immunotherapy. Correspondingly, oncolytic viruses can transform "cold tumors" into "hot tumors" by killing cancer cells, presenting antigens, recruiting and activating specific and innate immune cells. This significantly increases the infiltration of cytotoxic T cells, which promotes the effectiveness of immune checkpoint inhibitors (ICI). In today's highly advanced gene editing technology, through genetic modification, oncolytic viruses designed to carry genes encoding immune checkpoint inhibitor molecules can specifically express immune checkpoint inhibitors within tumors. This paves the way for a new approach to combined treatment with oncolytic viruses and immune checkpoint inhibitors. This new strategy not only leverages the complementary advantages of both in terms of the mechanisms of immunotherapy but also enhances the specific expression of immune checkpoint inhibitors and avoids their adverse effects, opening up a new avenue for immunotherapy based on oncolytic virus gene engineering. Currently, this strategy shows promising benefits in terms of overall survival improvement, tumor growth suppression, reinvigoration of memory T cells against tumors, and enhancement of infiltration of T cells ( $CD4^+$ ,  $CD8^+$ , and  $CD3^+$  T cells). It also offers the potential to establish more durable specific immunity, flexible expression of immune checkpoint inhibitors, and lower medical costs. It has broad prospects for development and application. However, the research has not yet entered the clinical stage, and there are still deficiencies in safety, effectiveness, etc. Therefore, it is one of the hot medical strategies worth further exploration, research, and application.

**Key words** oncolytic virus, gene engineering, immune checkpoint inhibition, immunotherapy combination therapy

## 0 引言

溶瘤病毒(oncolytic virus, OV)是一种能够通过特异性感染、裂解肿瘤细胞并呈递抗原来刺激抗肿瘤免疫的特殊病毒,其抗肿瘤历史相当悠久,可追溯至十九世纪,早于化疗、放疗、靶向药物等大多数临床抗肿瘤治疗方法。随着现代生物学与医学的发展,基于人们对病毒了解的深入和基因编辑技术的高度发达,1990年以来,溶瘤病毒重新成为肿瘤治疗研究的热点。

近年来,免疫疗法的兴起为肿瘤治疗领域带来了革命性的变化。通过以主动或被动的方式增强人体抗肿瘤免疫能力(尤其是T细胞的抗肿瘤作用),相比传统肿瘤治疗,免疫治疗展现出卓越的特异性和高效性和相对较好的免疫耐受性。在这一趋势下,针对溶瘤病毒的基因工程改造和与其他免疫疗法的联合治疗成为肿瘤治疗新热点。

这其中,免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint blockade) 以其突出的肿瘤免疫逃逸抑制能力的临床生存获益脱颖而出,成为最具发展潜力和的肿瘤免疫疗法之一。免疫抑制点抑制剂通过抑制 PD-1/PD-L1, CTLA-4 等免疫抑制因素,恢复T细胞活性,彻底颠覆了肿瘤治疗,2013年针对PD-1开创的癌症免疫疗法,被《Science》杂志评为“年度十大科学突破之首”,2018年获得了诺贝尔医学或生理学奖<sup>[1]</sup>。

然而,两种疗法的独立给药均存在缺陷:OV单独用药往往因人体自身抗病毒免疫疗效不佳,而ICI的

疗效往往收到肿瘤微环境(TME)的抑制无法达到理想效果。此外由于 ICI 往往进行全身递送,在激活人体对肿瘤免疫的同时往往还会导致对正常组织的免疫,严重的免疫相关不良事件在 ICI 治疗中很常见<sup>[2]</sup>。利用基因编辑技术,经过基因改造,携带能够表达的 ICI 编码基因的 OV 为溶瘤病毒抗肿瘤治疗开辟了新思路。肿瘤微环境(TME)引起的抗原低表达、细胞毒性 T 细胞浸润减少和免疫抑制性免疫细胞(调节性 T 细胞等)上调是限制 ICI 发挥作用的主要原因之一,而溶瘤病毒则能够通过杀伤癌细胞、呈递抗原、招募和激活特异性与先天性免疫细胞,将“冷肿瘤”转化为“热肿瘤”,促进 ICI 发挥作用。同时,OV 的高度选择性又能帮助 ICI 进行靶向递送,减少其不良反应<sup>[3]</sup>。

因此,编码 ICI 的 OV 不仅在免疫治疗机制层面高度互补,还能够提高 ICI 的特异性并规避其不良反应。随着多项重要研究报道<sup>[3,4]</sup>,近年来,这一发展方向成为肿瘤免疫治疗研究的最新热点,课题总量和文献发表量迅速上升。本文从溶瘤病毒的免疫机制及其与 ICI 联合研究切入,对编码 ICI 的 OV 的研究基础和现状进行综述。

## 1 溶瘤病毒(oncolytic virus,OV)

### 1.1 简介

OV 疗法是近些年兴起的一种新型抗肿瘤免疫疗法。每种病毒都有特定的细胞趋向性,这决定其优先感染的人体组织细胞,如狂犬病毒优先破坏神经元,乙型肝炎病毒优先感染肝细胞,艾滋病毒优先损害辅助性 T 淋巴细胞,流感病毒优先损害气道上皮细胞等等,而 OV 则是一类能够选择性感染并损害癌细胞的药用病毒。

OV 通常可分为两类,即自然复制病毒和基因重组改造病毒,第一类为仅在癌细胞中正常复制的自然复制病毒,由于对先天抗病毒免疫的敏感性,在人类中致病性很低。这些病毒包括细小病毒、黏液瘤病毒(MYXV)、呼肠孤病毒、新城疫病毒(NDV)和塞内卡谷病毒(SVV)等;第二类则为经基因工程改造后用作疫苗或兼具载体功能的病毒,如脊髓灰质炎病毒(PV)、麻疹病毒(MV)、牛痘病毒(VACV)、腺病毒、单纯疱疹病毒(HSV)和水疱性口炎病毒(VSV)等<sup>[5,6]</sup>。

### 1.2 历史发展

事实上,溶瘤病毒早在 19 世纪就引起了人们的注意,当时的医生发现部分肿瘤消退患者往往伴有病毒感染。随着 1949 年两例霍奇金淋巴瘤患者在注射肝炎病毒后神奇痊愈,在 20 世纪 50 年代至 80 年代,科学家对溶瘤病毒的抗肿瘤效应开展了大量研究,但由于病毒毒力控制能力和感染肿瘤的特异性控制力的缺乏,一直未能取得良好的临床效益,反而被认为不够安全,淡出人们的视野。

然而,1990 年以来,伴随基因工程的发展和人们对病毒结构与基因的了解,针对溶瘤病毒的基因改造使其重新回到肿瘤免疫疗法的最前沿。2005 年,CFDA 批准了三维生物的溶瘤病毒 H101 用于头颈部肿瘤的局部注射治疗。2015 年 FDA 批准了安进的溶瘤病毒药物 T-VEC 用于黑色素瘤治疗,得到全球广泛认可。而 OV 领域的研究也随着 T-VEC 的成功进入高速发展时期,成为抗癌免疫治疗新热点。目前,已有 4 款溶瘤病毒获批上市,除了 H101 和 T-VEC 外,还有日本的 Teserpaturev 和最早在拉美尼亚上市的 Rigvir。值得一提的是,中国早在 2005 年即上市 H101,走在世界溶瘤病毒前列<sup>[7-10]</sup>。

### 1.3 抗肿瘤机制

溶瘤病毒的抗肿瘤作用通常经两个途径发挥作用,即溶瘤病毒对癌细胞的直接裂解,和溶瘤病毒通过改变肿瘤微环境(TME)对人体免疫系统的间接激活作用,后者也是溶瘤病毒有效抗肿瘤的关键。

某些肿瘤的部分肿瘤微环境(TME)表现出高度复杂的异质性:其特点是酸性条件、缺氧、免疫原性低,因此免疫细胞功能受到抑制,人体特异性免疫和先天性免疫难以激活。这是实体瘤治疗的一大难点。而在这一基础上,由于靶细胞抑癌基因的失活,溶瘤病毒能够对其进行优先感染,先杀死部分癌细胞释放肿瘤特异性抗原,继而激活自然杀伤细胞(NK 细胞)和树突状细胞(DC 细胞)的先天性免疫,进而通过二者产生的炎症因子招募、致敏 T 细胞,研究表明,OV 治疗中 CD45<sup>+</sup>, DC, CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的浸润均呈显著提

高。这一过程可总结为 OV 将 TME 免疫原性低的“冷肿瘤”转化为 TME 免疫原性高的“热肿瘤”,激活人体对肿瘤的免疫杀伤<sup>[11]</sup>。

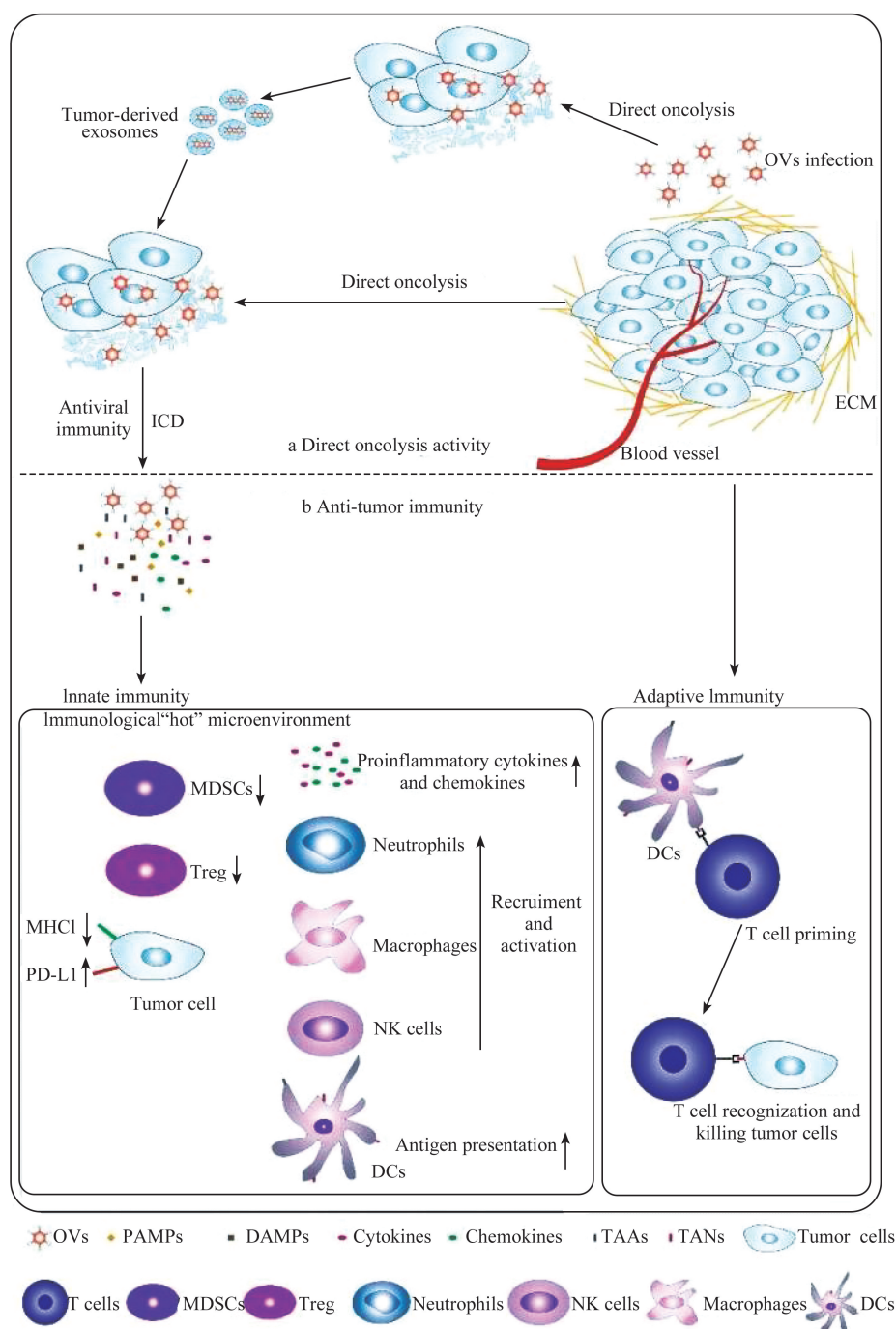


图 1 溶瘤病毒的抗肿瘤机制

Fig. 1 The anti-tumor mechanisms of oncolytic viruses

值得一提的是,溶瘤病毒引起人体抗肿瘤记忆细胞的产生,这为其带来了潜在的持久免疫效应,也因此以溶瘤病毒为载体的抗肿瘤疫苗正得到广泛研究<sup>[12]</sup>。

#### 1.4 病毒种类和适应症

目前全球研究最多的五类溶瘤病毒包括腺病毒、牛痘病毒、单纯疱疹病毒、呼肠孤病毒及柯萨基病毒,针对癌种主要集中于黑色素瘤、结直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、非小细胞肺癌等实体瘤。截至目前,全球在研溶瘤病毒药物约 317 个,进入临床阶段大约有 200 个。已有 4 款溶瘤病毒获批上市,除上市药物以外,全球范围内处在 III 期临床及以上的药物共有 9 种<sup>[13]</sup>。

1.5 基因工程改造——溶瘤病毒的新生

通过基因编辑技术改造溶瘤病毒已经得到科学界的广泛研究和应用,也是让 OV 疗法焕发新春,成为近年来研究热点的关键。对 OV 的基因改造主要集中于三大方向:敲除溶瘤病毒可能对正常人体组织产生毒性的基因片段;设计能够提升 OV 在肿瘤细胞中的特异性复制效率的的基因工程(如植入启动子编码基因)<sup>[14]</sup>;和在溶瘤病毒中插入能够辅助溶瘤病毒发挥作用的相关蛋白编码基因,其中应用最多的莫过于对溶瘤病毒进行粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colonystimulating factor, GM-CSF)的基因编码。已经上市并广泛应用于黑色素瘤治疗的 OncovexGM-CSF(T-VEC),正是一类 I 型单纯疱疹病毒(HSV-1)经过基因改造后的有效临床产物,它通过敲除两个拷贝的 ICP34. 5、ICP47 编码基因,插入了 GM-CSF 编码基因,降低其对人体的毒性并增强其抗肿瘤效应<sup>[15]</sup>。其余诸如白介素 IL-7、IL-12,干扰素 IFN $\alpha$ 、IFN $\beta$ ,和癌症抗原(将溶瘤病毒设计为癌症疫苗)等针对肿瘤病毒的基因改造研究纷纷提上日程<sup>[16]</sup>。

目前已上市的四款 OV 药物中,有三款都经过了基因工程改造,通过基因工程改造研究不断增强溶瘤病毒的疗效和安全性是未来免疫疗法的重要方向。

表 1 已上市的 OV 及其基因改造位点

Table 1 Marketed Oncolytic Viruses (OVs) and Their Genetic Modifications

| 名称           | 病毒类型            | 基因改造                                                | 适应症        | 批准机构 | 年份   |
|--------------|-----------------|-----------------------------------------------------|------------|------|------|
| RIGVIR       | 人肠道细胞病<br>变孤儿病毒 |                                                     | 黑色素瘤、结直肠癌等 | 拉脱维亚 | 2004 |
| H101         | 腺病毒             | 删除 E1B-55KD 和<br>E2 基因片段                            | 头颈癌        | CFDA | 2005 |
| T-VEC        | I 型单纯疱疹病毒       | 删除双拷贝 ICP34. 5 和<br>ICP47;插入 hGM-CSF                | 晚期黑色素瘤     | FDA  | 2015 |
| Teserpaturev | II 型单纯疱疹病毒      | 删除双拷贝 ICP34. 5 和<br>ICP47;插入 $\beta$ -半乳糖<br>苷酶基因片段 | 恶性胶质瘤      | MHLW | 2021 |

1.6 现存缺陷

然而,作为病毒疗法,OV 较其他免疫疗法存在明显缺陷:首先,人体的抗病毒免疫将限制 OV 发挥作用,故 OV 的注射剂量、时机、频率需要严格考量;其次,尽管 OV 已经展现出高度的选择性感染,但始终没有有力的临床试验数据证明其不会表达于正常组织细胞。因此诱导溶瘤细胞特异性感染癌细胞非常重要,这也是迄今大部分溶瘤病毒在临床采取局部瘤内注射的原因。

目前,提高 OV 对靶细胞感染选择性的策略主要有这几种:改造病毒纤突;采用对病毒纤突和肿瘤相关抗原双特异性配体;敲除可能使 OV 感染正常细胞的基因;插入增强病毒在靶细胞复制效率的启动子等<sup>[17]</sup>。

大多有关 OV 的临床试验未报道除发热和局部反应外的不良反应,证明其总体安全,但仍有少数 OV 疗法在临床试验中引发严重不良反应,如在一项溶瘤腺病毒 Delta24-RGD 在复发性胶质母细胞瘤患者中应用的临床试验中,某些患者因病毒性脑膜炎导致颅内压增高接受激素治疗<sup>[18]</sup>。溶瘤病毒的安全性仍待进一步探讨。

2 免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICI)

2.1 简介

在人体正常稳态时,免疫检查点配体-受体的相互作用对 T 细胞免疫反应起到负调节作用,从而防止其对人体正常组织造成损害,主要包括靶向细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4(CTLA-4,与 T 细胞协同刺激分子 CD80/CD86 结合)、程序性细胞死亡蛋白 1(PD-1)及其配体 PD-L1 等(如图 2 所示)<sup>[19]</sup>。然而对肿瘤治疗而言,免疫检查点却成为癌细胞用来对抗人体免疫的工具,抑制细胞毒性 T 细胞的免疫活性使其耗竭并通过对调节性 T 细胞(T<sub>reg</sub>)的激活进一步抑制人体特异性免疫。

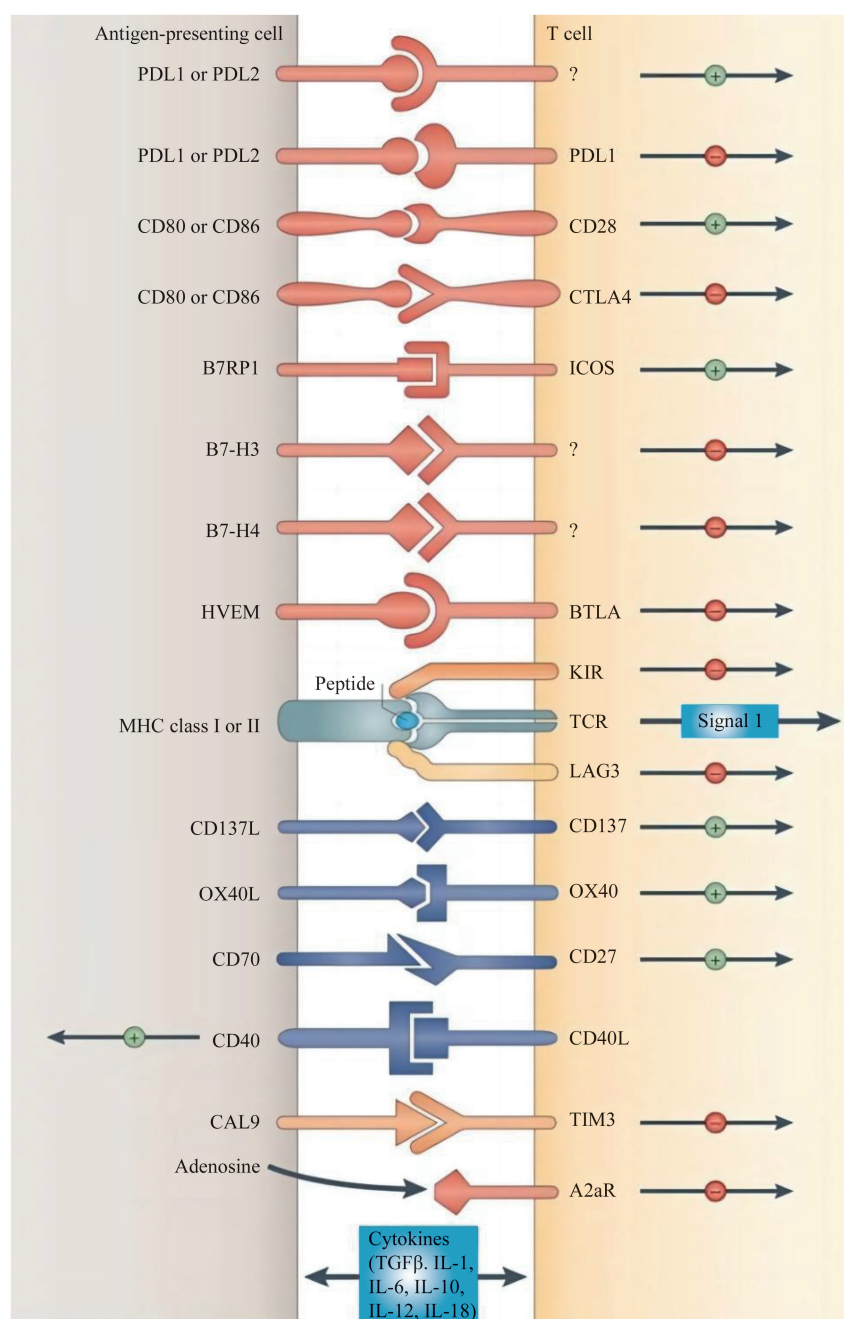


图 2 人体主要免疫检查点示意图

Fig. 2 Schematic Diagram of Major Immune Checkpoints in the Human Body

ICI 的原理即为通过抑制免疫检查点,解除肿瘤对免疫系统的抑制作用,恢复 T 细胞的免疫功能,从而激活 T 细胞杀伤肿瘤细胞。主要包括抗 CTLA-4 抗体、抗 PD-1 抗体和抗 PD-L1 抗体。其中,据各项临床试验证据表明,PD-1 抗体可使 ICI 在各类肿瘤治疗的总体缓解率达到至少 10%<sup>[17]</sup>,在非小细胞肺癌治疗中,ICI 总体缓解率可达 20%~30%,而在黑色素瘤治疗中,总体缓解率可达 30%~40%,完全缓解率可达 15%~20%。<sup>[20,21]</sup> 基于其出色的临床表现,ICI 被认为是当前最具发展潜力和的肿瘤免疫疗法之一。2013 年针对 PD-1 开创的癌症免疫疗法,被《Science》杂志评为“年度十大科学突破之首”,而两大免疫检查点 CTLA-4 和 PD-1 的发现者也因此获得 2018 年诺贝尔生理或医学奖。

各类 ICI 中,针对 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 的抑制剂展现出最为优异的疗效。FDA 于 2010 年批准用于治疗晚期黑色素瘤 ipilimumab 是 CTLA-4 抑制剂的最大突破<sup>[22]</sup>。与 CTLA-4 相比,PD-1 的表达更广泛,表达量更高,在研和已上市的药物也更多,每年都有多种新型 PD-1/PD-L1 抑制剂上市。目前国内上市

的 PD-1 抑制剂有:纳武利尤单抗(O 药)、帕博利珠单抗(K 药)、信迪利单抗、替雷利珠单抗、卡瑞利珠单抗、特瑞普利单抗、派安普利单抗、塞帕利单抗、斯鲁利单抗。PD-L1 抑制剂有:度伐利尤单抗、阿替利珠单抗、恩沃利单抗、舒格利单抗、阿德贝利单抗。

## 2.2 现存缺陷

尽管 ICI 尤其是 PD-1 抑制剂在肿瘤治疗中已经取得突破性进展,但 ICI 的单药治疗仍然难以达到理想预期,即使是药物反应性表现最佳的病人,其总体缓解率也很难突破 35%~40%<sup>[23]</sup>。

然而,ICI 的抗肿瘤机制(恢复 T 细胞抗肿瘤活性)能够与其他肿瘤治疗方法形成良好互补。ICI 与化疗、小分子抑制剂靶向治疗、过继细胞疗法(CAR-T 等)以及 OV 等的研究都表明联合治疗能够显著提升 ICI 的疗效,联合用药是除新型 ICI 开发外提升 ICI 疗效的重要手段。

同时,高发的不良反应率和某些严重的不良反应是 ICI 治疗的一大弊端。免疫检查点本身的作用为防止机体免疫的过度激活,因此免疫检查点抑制剂容易造成人体自身免疫疾病等严重不良反应<sup>[2]</sup>,严重的免疫相关不良事件在 ICI 治疗中很常见,如在 III 期临床试验接受 Ipilimumab(CTLA-4 抑制剂)治疗的患者中,约有 25%~30% 的患者发生 3~4 级免疫相关不良事件,包含内分泌不良反应、心血管不良反应、风湿病、神经性不良反应等种种慢性自免疾病等等<sup>[24]</sup>。在保证疗效的基础之上提高其安全性是 ICI 研发的重要方向。

## 3 溶瘤病毒与免疫检查点抑制剂联合用药

将 ICI 编码到 OV 的新策略建立在 OV 于 ICI 的联合用药取得卓著成效的基础之上,故先对 ICI 与 OV 联合治疗的组合获益做简要陈述。

由前文所述,OV 与 ICI 的单药治疗均存在缺陷,而二者联用却能从机制层面起到高度契合的互补作用:一方面,PD-1/PD-L1 等免疫检查点在肿瘤细胞和免疫细胞上的表达使得肿瘤细胞对溶瘤病毒迅速产生耐药性,而 ICI 能够针对免疫检查点进行有效阻断,杀伤肿瘤细胞,削弱其对溶瘤病毒的抵抗力,增强溶瘤病毒疗法的杀伤力<sup>[23]</sup>;另一方面,抑制剂对免疫检查点的阻断反应首先与肿瘤侵袭边缘及病灶处含有相关检查点配体(如 PD-1)的 CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润数量有关<sup>[25]</sup>,大多肿瘤为 CD8<sup>+</sup> 细胞浸润较少的“冷肿瘤”(包括免疫排除型与免疫沙漠型),使其对 ICI 产生耐药性是限制 ICI 疗法的一大关键因素。而 OV 则通过直接裂解肿瘤细胞,释放相关分子及抗原招募免疫细胞,并通过由 NK 细胞 DC 细胞介导的炎症因子释放进一步募集 T 细胞,从而致敏 T 细胞并增加其浸润,弥补了 ICI 的这一不足<sup>[26]</sup>。二者的相互促进机制如图 3 所示。

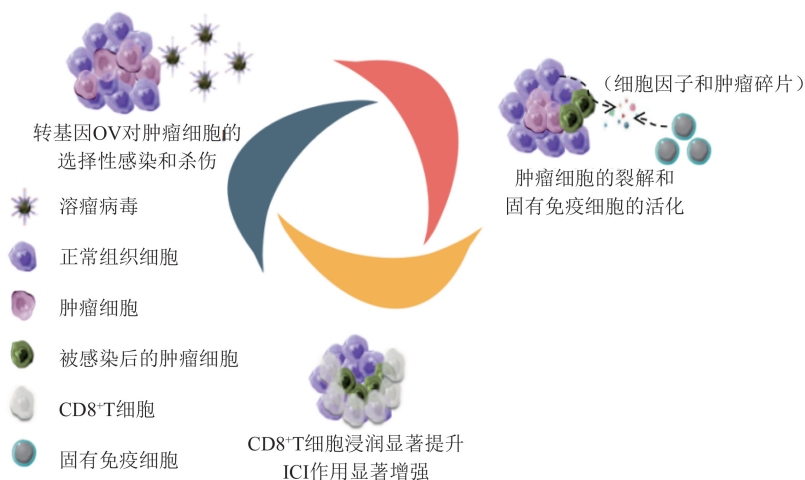


图3 OV 与 ICI 相互促进抗肿瘤机制示意图

Fig. 3 Schematic Diagram of the Synergistic Anti-Tumor Mechanism between Oncolytic Viruses (OVs) and Immune Checkpoint Inhibitors (ICIs)

体外研究表明,OV 与 ICI 联合用药能够引起 NK 细胞和 DC 细胞的活化,使肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的表达量显著增加,进而引起 CD8<sup>+</sup> 浸润的增加和 PD-L1 表达的上调,从而辅助 ICI 的治疗。<sup>[27]</sup>除此之外,

OV 与 ICI 的体外联合用药还发现了肿瘤细胞表面的 PD-L1 受体表达量上调,免疫抑制性细胞尤其是  $T_{reg}$  的显著下降,以及由 NK 细胞和  $CD8^+$  T 细胞释放的干扰素  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) 的显著上调<sup>[28-30]</sup>,这些因素无不有利于促进 ICI 发挥作用和促进机体的抗肿瘤免疫作用。

同时,一项发表在《Cell》上的 OV 与 PD-1/PD-L1 联合治疗临床试验研究显示,二者联用的总体缓解率为 62%,完全缓解率为 33%,远大于 PD-1 单药治疗下的总体缓解率(一般介于 10%~30%)<sup>[31]</sup>。因此,OV 与 ICI 的联合疗法在抗肿瘤机制层面高度互补,并在体外实验和 I、II 期临床试验当中得到验证,成效显著,是 ICI 免疫治疗联合用药的最新热点。

此外需要指出,研究表明,免疫检查点抑制剂激活 T 细胞抗肿瘤效应的同时还会增强其抗病毒效应,使溶瘤病毒对癌细胞的毒性下降。因此二者联用可能抑制 OV 的疗效,基于此,有研究指出应在 OV 注射一周后再注射 ICI<sup>[27]</sup>。

## 4 编码免疫检查点抑制剂的溶瘤病毒研究现状

### 4.1 简介

编码 ICI 的 OV,即将 ICI 的编码基因插入 OV,在作为 ICI 靶向递送载体的同时,也发挥 OV 和 ICI 的联合疗效,成为 ICI 与 OV 联合发挥作用的最新思路。这一方案在结合两种免疫疗法优势的同时,利用 OV 的高度选择性促使 ICI 得到靶向递送和局部生产,而这又在安全性层面上有效抑制了 ICI 对引起的某些与自身免疫有关的疾病。一项较早的关于编码 CTLA-4 特异性全人源单克隆抗体的溶瘤腺病毒的证明,在小鼠体内适用编码病毒得到的抗体含量是血浆给药的 43 倍,充分证明其可行性。<sup>[32]</sup>

### 4.2 特点与意义

4.2.1 高度靶向性。许多研究都通过比较静脉注射 ICI 和利用 OV 递送 ICI 的结果,证实了这一技术使瘤内 PD-1、PD-L1、CTLA-4 分子检测水平显著升高。证实编码 OV 能够帮助 ICI 进行高度靶向性的递送,是提高相应配体、受体表达,促进 ICI 发挥抑制功能的重要原因之一。<sup>[33-35]</sup>

4.2.2 灵活的抑制剂表达。除 ICI 单药给药一般所用的全抗体(mAb),通过对 OV 进行编码,可以更多植入同样具有 IC 抑制作用的单链可变片段(single-chain fragment variables, scFv)和 scFv-Fc 融合蛋白。scFv 由抗体中的轻链(VL)和重链(VH)经柔性接头(flexible linker)组成,其小尺寸能够允许 ICI 加强在肿瘤中的表达和渗透,通过对 OV 进行 scFv 的多转基因,或提高其有效载荷,使这一创新疗法发挥更大作用<sup>[3]</sup>。

4.2.3 更持久的二次免疫效应。OV 能够刺激人体记忆 T 细胞的激活,编码 ICI 后的 OV 使得其在抗病毒的同时兼具了抗肿瘤的活性,使免疫反应更加持久,并能够防止肿瘤复发。

4.2.4 减少不良反应。适用 OV 靶向递送 ICI,使 ICI 局部生产,削弱了 ICI 对全身其他正常组织细胞的免疫干扰,成为防止免疫检查点抑制疗法不良反应的潜在工具。

4.2.5 单次给药起到联合用药效果。编码 ICI 的 OV 通过单次给药达到了二者联合用药的效果,避免了分别独立给药的不良反应叠加,并减少了治疗成本。

### 4.3 研究综述

基于这一改造原理进行的体外研究和动物研究成为近年免疫治疗的研究热点之一,据笔者不完全统计,目前包括溶瘤腺病毒(AdVs)、单纯疱疹病毒(HSV)、粘液瘤病毒(MYXV)、新城疫病毒(NDV)、痘苗病毒(VV)、水疱型口炎病毒(VSV)和嵌合痘病毒等均已被改造用于表达对 CTLA-4、PD-1 和 PD-L1 三大主要靶点的 ICI,并已经在不同动物模型中取得可期成果:在总体生存期的提高、肿瘤生长的抑制、再次激发后记忆 T 细胞对肿瘤的排斥、细胞毒性 T 细胞的浸润和免疫抑制性细胞 Tregs 和髓源性抑制细胞(MDSC)的减少、抗肿瘤细胞因子(IFN $\gamma$ , IL-2 等)增加等方面均有显著作用。

目前改策略应用最广泛的两种 OV 为腺病毒(AdVs)和单纯疱疹病毒(HSV),通过对相关研究主要结论的总结,可以清晰知晓目前 ICI 编码 OV 的主要靶点、机制和临床前出色表现,详见表 2。

表 2 部分对于溶瘤腺病毒和单纯疱疹病毒的 ICI 编码改造研究  
Table 2. Research on the Encoding Modification of Immune Checkpoint Inhibitors (ICIs)  
for Oncolytic Adenoviruses and Herpes Simplex Viruses

| OV     | 编码 ICI 类型 | 作用靶点   | 小鼠肿瘤模型                | 研究成果                                                                                                                                                                                                  |
|--------|-----------|--------|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ad5    | IgG2      | CTLA-4 | 黑色素瘤、肺癌<br>(皮下移植)     | 治疗组与未治疗组相比: 肿瘤生长显著减少 72%, 肿瘤细胞中 GM-CSF 和抗 CTLA-4 的产生 <sup>[35]</sup>                                                                                                                                  |
| Ad5/3  | IgG2      | CTLA-4 | 前列腺癌、非小细胞<br>肺癌(皮下移植) | 治疗组与未治疗组相比: 肿瘤生长显著减少免疫反应; 与全身血浆注射相比, 肿瘤抗 CTLA-4 抗体浓度增加 43 倍; 体外人 T 细胞活化试验: 在 OV 感染细胞的上清液存在下培养的晚期实体癌患者的单核血细胞, T 细胞 IL-2 和 IFN- $\gamma$ 的产生增加 <sup>[32]</sup>                                          |
| Ad68   | IgG4      | PD-1   | 结直肠癌(皮下移植)            | 治疗组与亲本 OV 治疗和未治疗组相比: 生存期更长, 肿瘤生长显著减少, 再次激发时肿瘤排斥成功, 全身性 CD8 <sup>+</sup> T 细胞和效应器以及中枢记忆 T 细胞比例显著增加; PD-1 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> 和 PD-1 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> T 细胞比例显著降低 <sup>[36]</sup> |
| Ad5/24 | scFv      | PD-L1  | 结直肠癌(皮下移植)            | 治疗组与亲本 OV 治疗和未治疗组相比: 与亲本 OV 和未经治疗相比, 生存期显著延长, 肿瘤生长显著减少, 肿瘤内 CD8 <sup>+</sup> T 细胞浸润显著增加 <sup>[37]</sup>                                                                                               |
| HSV-1  | scFv      | PD-1   | 肝癌(皮下移植)              | 与亲本 OV 和未经治疗组相比, 肿瘤生长显著减少, 长期抑制作用更大; 与亲本 OV 相比, 活化的 CD4 <sup>+</sup> 和 CD8 <sup>+</sup> 细胞肿瘤浸润显著增加 <sup>[38]</sup>                                                                                    |
| HSV-1  | scFv      | PD-1   | 肝癌(原位移植)              | 治疗组与亲本 OV 治疗和未治疗组相比: 总生存期增加, 肿瘤生长显著减少, 治疗的小鼠在 12 周时无肿瘤 <sup>[39]</sup>                                                                                                                                |
| HSV-1  | scFv      | PD-1   | 黑色素瘤                  | 治疗组与亲本 OV 治疗和未治疗组相比: 肿瘤生长显著减少, CD4 <sup>+</sup> 和 CD8 <sup>+</sup> T 细胞浸润显著增加; RNA-seq 分析表明: 与亲本相比, 干扰素上调和病毒、肿瘤抗原加工、呈递上调 <sup>[40]</sup>                                                              |
| HSV-1  | scFv      | PD-1   | 胶质母细胞瘤                | 治疗组与亲本 OV 治疗和未治疗组相比: 生存期增加, 再次激发后成功排斥肿瘤 <sup>[41]</sup>                                                                                                                                               |
| HSV-2  | IgG       | PD-1   | 黑色素瘤                  | 治疗组与亲本 OV 治疗和未治疗组相比: CD4 <sup>+</sup> 、CD8 <sup>+</sup> 细胞的全身百分比增加, T 细胞活化标志物显著增加, Tregs 和 MDSC 显著减少 <sup>[42]</sup>                                                                                  |

注: Ad: 腺病毒, HSV: 单纯疱疹病毒, 均为经过一定程度基因改造的病毒, 非野生型病毒。

除了本文主要整理的两种 OV 外, 还有很多 OV 的 ICI 编码被证实有效, 所针对的肿瘤模型还包括, 这一新免疫治疗策略在临床前动物实验中取得良好成效。一项以溶瘤牛痘病毒为载体的结果表明, 肿瘤细胞和 TME 的其他成分在 OV 感染后产生 OV 编码的 PD-1 抗体(包括抗原结合片段和 scFvs), 治疗效果明显优于单独使用 OV 或抗 PD-1 治疗<sup>[43]</sup>。而在另一项研究中, Bartee et al. 创造了一种编码可溶 PD-1 的溶瘤粘液瘤病毒, 该病毒可作为 PD-L1 的诱饵。在小鼠 B16 黑色素瘤模型中, 这种修饰的 OV 比使用未修饰的 OV 和 PD-1 抗体作为独立实体的联合治疗更有效且毒性更小<sup>[44]</sup>。

值得注意的是, 先天性免疫细胞介导的炎症反应是 OV 发挥作用的基础, 随着越来越多成熟的工程 OV 的出现, 大量伴有 GM-CSF 编码的 OV 和 ICI 联合研究表明, 在编码 ICI 的同时编码 GM-CSF 等细胞因子, 能够促进 PD-L1 的上调, 进一步提升 ICI 的阻断反应效益<sup>[3]</sup>。

4.4 现存缺陷

4.4.1 OV 与 ICI 联用的临床效果有待证实。 先前所述, 一项发表在《Cell》中的临床研究显示, 使用 T-VEC 和帕博利珠单抗联合治疗, 总体缓解率和完全缓解率均远大于 PD-1 单药治疗的总体缓解率<sup>[31]</sup>。然

而,在实际的最新Ⅲ期临床试验却表明,使用 T-VEC 和帕博利珠单抗联合治疗的患者在 PFS 或总生存期方面没有显著改善,二者针对不同病人、癌种的临床效益需要更多数据的支撑。

4.4.2 ICI 对 OV 产生抑制作用。研究表明,免疫检查点抑制剂激活 T 细胞抗肿瘤效应的同时还会增强其抗病毒效应,使溶瘤病毒对癌细胞的毒性下降。当二者分别独立给药时,可通过控制给药时机减少影响,但编码后则无法对其形成有效控制。可考虑从 ICI 与 OV 的相互作用机制出发,或从控制 ICI 在编码后 OV 中的表达时机的角度做进一步基因改造。

4.4.3 存在毒性风险。此外,编码 ICI 的 OV 也存在一定风险——经过 ICI 编码基因改造的 OV 是否会降低其选择性而感染正常细胞难以知晓,同时,与全身注射 ICI 相比,该方法给药时若存在对 ICI 个体化的严重不良反应,无法第一时间观测到。因此,有研究提出应在 OV 中进一步添加“安全保险”,在出现毒性时及时阻断 OV 的复制和 ICI 的表达<sup>[44]</sup>,这也是 OV 基因工程的未来发展方向之一。

## 5 结语

综上所述,免疫检查点抑制剂编码的溶瘤病毒,利用日益成熟的基因工程技术,将 ICI 编码到 OV 当中,通过 OV 给药,即可发挥二者联用的组合获益,在总体生存期的提高、肿瘤生长的抑制、再次激发后记忆 T 细胞对肿瘤的排斥、细胞毒性 T 细胞的浸润和免疫抑制性细胞 Tregs 和髓源性抑制细胞(MDSC)的减少、抗肿瘤细胞因子(IFN $\gamma$ , IL-2 等)增加等方面都呈现可期获益;并能够通过 OV 对肿瘤细胞的高度选择性感染促使 ICI 得到靶向递送和局部生产,而这又在安全性层面上有效抑制了 ICI 引起的某些与自身免疫有关的疾病。此外,这一新策略还具有建立更持久的特异性免疫、灵活的免疫检查点抑制剂编码表达、医疗成本低等优点。是值得进一步挖掘、研究、应用的免疫治疗热门策略之一。

然而,相关研究均停留在临床前阶段,没有临床证据证实其有效性和安全性。此外,包括:怎样根据不同癌种选择适合的溶瘤病毒类型,如何验证二者联合免疫治疗相较其他免疫联合疗法的疗效好坏,如何防止 OV 用药之初“掩蔽”了 ICI 对某些个体可能产生的严重不良反应(如何为 OV 建立毒性“安全锁”),基因改造后的溶瘤病毒是否会感染正常细胞并引起不良反应等问题尚未厘清。

此外,该疗法本身存在局限性。包括:免疫检查点抑制剂激活 T 细胞抗肿瘤效应的同时还会增强其抗病毒效应,使溶瘤病毒对癌细胞的毒性下降;溶瘤病毒与其他免疫疗法的联合使用疗效尚需进一步临床试验的佐证;OV 往往通过瘤内注射进行局部给药,这也意味着基于 ICI 编码改造的溶瘤病毒联合免疫疗法往往只针对于肿瘤内部细胞,难以抑制癌细胞的全身性转移,这一局限性也使得编码 ICI 的 OV 不足以成为对抗癌症的真正利器。OV 的全身性递送目前临床应用较少,如何在保障 OV 高度特异性的同时扩大其用药范围尚需进一步研究。因此,OV 的高度选择性感染问题仍是当下 OV 待突破的难关,若能够解决其安全性和高度选择性感染问题进行全身递送,编码 ICI 的 OV 或能成为靶向递送 ICI 的重要途径。

因此,该策略有待进一步研究完善,但这并不掩盖编码 ICI 的 OV 疗法的光明前景。通过基因工程为 OV 建立毒性“安全锁”;进一步提升 OV 的感染选择性以优化其靶向作用;尝试新的组合免疫(如与 NK 细胞共注射等),是其未来最为值得期待的发展方向。

ICI 与 OV 的联合免疫疗法在免疫疗法的新纪元为科研工作者开辟了新思路,虽然这一创新疗法临床疗效仍需进一步研究,但针对免疫疗法联合应用及对溶瘤病毒的基因改造策略等研究思路必将为癌症治疗打开新的大门。

## 参 考 文 献

- [1] LIU X T, HOGG G, DENARDO D. Rethinking immune checkpoint blockade: 'beyond the T cell'[J]. Journal for Immunotherapy of Cancer, 2021, 9(1):e001460.
- [2] ZHUANG J, ZHAO J, GUO X, et al. Clinical diagnosis and treatment recommendations for immune checkpoint inhibitor-related hematological adverse events[J]. Chinese Lung Cancer Journal, 2019, 22:676-680.

- [3] LOVATT C, PARKER A L. Oncolytic viruses and immune checkpoint inhibitors: the “hot” new power couple[J]. *Cancers*, 2023, 15: 15164178.
- [4] CHIU M, ARMSTRONG E J L, JENNINGS V, et al. Combination therapy with oncolytic viruses and immune checkpoint inhibitors[J]. *Expert Opinion On Biological Therapy*, 2020, 20:635-652.
- [5] RUSSELL S J, PENG K, BELL J C. Oncolytic virotherapy[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30:658-670.
- [6] LIN D N, SHEN Y N, LIANG T B. Oncolytic virotherapy: basic principles, recent advances and future directions[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2023, 8(5):2180-2208.
- [7] WEBB H E, WETHERLEY-MEIN G, SMITH C E, et al. Leukaemia and neoplastic processes treated with langat and kysanur forest disease viruses: a clinical and laboratory study of 28 patients[J]. *British Medical Journal*, 1966, 5482:258-266.
- [8] HOSTER H A, ZANES JR R P, von HAAM E. Studies in hodgkin’s syndrome: ix. The association of “viral” hepatitis and hodgkin’s disease (a preliminary report)[J]. *Cancer Research*, 1949, 9(8):473-480.
- [9] GESUNDHEIT B, ROSENZWEIG J P. Editorial: oncolytic viruses-genetically engineering the future of cancer therapy[J]. *Frontiers in Oncology*, 2017, 7:271.
- [10] SU Y, SU C, QIN L. Current landscape and perspective of oncolytic viruses and their combination therapies[J]. *Translational Oncology*, 2022, 25:101530.
- [11] RUSSELL S J, PENG K, BELL J C. Oncolytic virotherapy[J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30(7):658-670.
- [12] HOWELLS A, MARELLI G, LEMOINE N R, et al. Oncolytic viruses-interaction of virus and tumor cells in the battle to eliminate cancer[J]. *Frontiers in Oncology*, 2017, 7:195.
- [13] SIVANANDAM V, LAROCCA C J, CHEN N G, et al. Oncolytic viruses and immune checkpoint inhibition: the best of both worlds[J]. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 2019, 13:93-106.
- [14] ZHANG K J, ZHANG J, WU Y M, et al. Complete eradication of hepatomas using an oncolytic adenovirus containing AFP promoter controlling E1A and an E1B deletion to drive IL-24 expression[J]. *Cancer Gene Therapy*, 2012, 19:619-629.
- [15] KILLOCK D. T-VEC oncolytic viral therapy shows promise in melanoma[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2015, 12:438.
- [16] MUTTENTHALER M, KING G F, ADAMS D J, et al. Trends in peptide drug discovery[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 20:309-325.
- [17] TIAN Y, XIE D, YANG L. Engineering strategies to enhance oncolytic viruses in cancer immunotherapy[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7:117.
- [18] van PUTTEN E, KLEIJN A, van BEUSECHEM V W, et al. Convection enhanced delivery of the oncolytic adenovirus Delta24-RGD in patients with recurrent gbm: a phase i clinical trial including correlative studies[J]. *Clinical Cancer Research*, 2022, 28:1572-1585.
- [19] NISHIMURA H, OKAZAKI T, TANAKA Y, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice[J]. *Science*, 2011, 313:319-322.
- [20] ARANCE A, de la CRUZ-MERINO L, PETRELLA T M, et al. Phase ii leap-004 study of lenvatinib plus pembrolizumab for melanoma with confirmed progression on a programmed cell death protein-1 or programmed death ligand 1 inhibitor given as monotherapy or in combination[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2023, 41:75-85.
- [21] ZHU X, SUN L, SONG N, et al. Safety and effectiveness of neoadjuvant PD-1 inhibitor (toripalimab) plus chemotherapy in stage II-III NSCLC (lungmate 002): an open-label, single-arm, phase 2 trial[J]. *BMC Medicine*, 2022, 20:493.
- [22] WOLCHOK J D, HODI F S, WEBER J S, et al. Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2013, 1291:1-13.
- [23] SIVANANDAM V, LAROCCA C J, CHEN N G, et al. Oncolytic viruses and immune checkpoint inhibition: the best of both worlds[J]. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 2019, 13:93-106.
- [24] JOHNSON D B, NEBHAN C A, MOSLEHI J J, et al. Immune-checkpoint inhibitors: long-term implications of toxicity[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2022, 19:254-267.
- [25] PALUCKA A K, COUSSENS L M. The basis of oncoimmunology[J]. *Cell*, 2014, 164:1233-1247.
- [26] LI S, SUN Z. Fueling immune checkpoint blockade with oncolytic viruses: current paradigms and challenges ahead[J]. *Cancer Letters*, 2022, 550:215937.
- [27] RAJANI K, PARRISH C, KOTTKE T, et al. Combination therapy with reovirus and anti-PD-1 blockade controls tumor growth through innate and adaptive immune responses[J]. *Molecular Therapy*, 2016, 24:166-174.
- [28] LIU Z, GE Y, WANG H, et al. Modifying the cancer-immune set point using vaccinia virus expressing re-designed interleukin-2[J]. *Nature Communications*, 2018, 9:4682.

- [29] VEINALDE R, PIDELASERRA-MARTÍ G, MOULIN C, et al. Oncolytic measles vaccines encoding PD-1 and PD-L1 checkpoint blocking antibodies to increase tumor-specific T cell memory[J]. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 2022, 24:43-58.
- [30] TIAN C, LIU J, ZHOU H, et al. Enhanced anti-tumor response elicited by a novel oncolytic HSV-1 engineered with an anti-PD-1 antibody[J]. *Cancer Letters*, 2021, 518:49-58.
- [31] RIBAS A, DUMMER R, PUZANOV I, et al. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral T cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy[J]. *Cell*, 2017, 170:1109-1119.
- [32] DIAS JD, HEMMINKI O, DIACONU I, et al. Targeted cancer immunotherapy with oncolytic adenovirus coding for a fully human monoclonal antibody specific for CTLA-4[J]. *Gene Therapy*, 2012, 19:988-998.
- [33] ZHANG Z, YANG A, CHAURASIYA S, et al. CF33-hNIS-antiPD-L1 virus primes pancreatic ductal adenocarcinoma for enhanced anti-PD-L1 therapy[J]. *Cancer Gene Therapy*, 2022, 29:722-733.
- [34] WANG G, KANG X, CHEN KS, et al. An engineered oncolytic virus expressing PD-L1 inhibitors activates tumor neoantigen-specific T cell responses[J]. *Nature Communications*, 2020, 11:1395.
- [35] DU T, SHI G, LI YM, et al. Tumor-specific oncolytic adenoviruses expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor or anti-CTLA-4 antibody for the treatment of cancers[J]. *Cancer Gene Therapy*, 2014, 21:340-348.
- [36] ZHOU P, WANG X, XING M, et al. Intratumoral delivery of a novel oncolytic adenovirus encoding human antibody against PD-1 elicits enhanced antitumor efficacy[J]. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 25:236-248.
- [37] VITALE M, SCIALÒ F, PASSARIELLO M, et al. Oncolytic adenoviral vector-mediated expression of an anti-PD-L1-scFv improves anti-tumoral efficacy in a melanoma mouse model[J]. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12:902190.
- [38] LIN C, REN W, LUO Y, et al. Intratumoral delivery of a PD-1-blocking scFv encoded in oncolytic hsv-1 promotes antitumor immunity and synergizes with TIGIT blockade[J]. *Cancer Immunology Research*, 2020, 8(5):632-647.
- [39] TIAN C, LIU J, ZHOU H, et al. Enhanced anti-tumor response elicited by a novel oncolytic hsv-1 engineered with an anti-PD-1 antibody[J]. *Cancer Letters*, 2021, 518:49-58.
- [40] PASSARO C, ALAYO Q, DELAURA I, et al. Arming an oncolytic herpes simplex virus type 1 with a single-chain fragment variable antibody against PD-1 for experimental glioblastoma therapy[J]. *Clinical Cancer Research*, 2019, 25(1):290-299.
- [41] ZHU Y, HU X, FENG L, et al. Enhanced therapeutic efficacy of a novel oncolytic herpes simplex virus type 2 encoding an antibody against programmed cell death 1[J]. *Molecular Therapy-Oncolytics*, 2019, 15:201-213.
- [42] KLEINPETER P, FEND L, THIOUDELLET C, et al. Vectorization in an oncolytic vaccinia virus of an antibody, a fab and a scFv against programmed cell death-1 (PD-1) allows their intratumoral delivery and an improved tumor-growth inhibition[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(10):e1220467.
- [43] BARTEE MY, DUNLAP KM, BARTEE E. Tumor-localized secretion of soluble PD-1 enhances oncolytic virotherapy[J]. *Cancer Research*, 2017, 77:2952-2963.
- [44] KONTERMANN RE, UNGERRECHTS G, NETTELBECK DM. Viro-antibody therapy: engineering oncolytic viruses for genetic delivery of diverse antibody-based biotherapeutics[J]. *MAbs*, 2021, 13(1):e1982447.

(责任编辑:刘庆松)