

# T 细胞受体工程化 T 细胞疗法的临床研究及动物肿瘤模型的应用

王琨, 汪金姣, 王峰鹏\*

(上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

**[摘要]** T 细胞受体工程化 T 细胞 (T cell receptor-engineered T cells, TCR-T) 疗法和嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T cells, CAR-T) 疗法是 2 种过继性细胞疗法 (adoptive cell therapy, ACT), 它们通过基因修饰技术赋予天然 T 细胞特异性识别肿瘤的受体来治疗癌症。CAR-T 疗法针对复发或难治性血液系统恶性肿瘤, 尤其是在急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 的治疗中展现出令人瞩目的临床效果, 但对实体瘤的治疗效果却不尽如人意。靶向肿瘤抗原的 TCR-T 疗法已在临床上证明可以有效治疗实体瘤, 并取得了令人鼓舞的临床数据。但是, TCR-T 疗法也面临一些挑战, 例如靶向肿瘤抗原的选择、肿瘤特异性 TCR 的选择和优化、TCR-T 的体内持久性和临床安全性等。综述 TCR-T 疗法的临床发展现状和其非临床研究动物模型的应用, 并讨论了动物模型在克服当前限制性因素中的应用, 以期待 TCR-T 疗法使更多肿瘤患者受益。

**[关键词]** TCR-T 疗法; 非临床研究动物模型; 实体瘤

**[中图分类号]** Q789; R730.51 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2021) 08-0574-11

## Clinical Research on T Cell Receptor-Engineered T Cells Therapy and Application of Its Preclinical Animal Models

WANG Kun, WANG Jinjiao, WANG Haopeng

(School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China)

**[Abstract]** T cell receptor-engineered T cells (TCR-T) and chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) therapies are two main types of adoptive cell therapy (ACT), which can treat cancer by giving natural T cells specific recognition of tumor receptors through gene modification technique. CAR-T therapy has achieved remarkable success in relapsed or refractory hematological malignancies, especially in the treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL), yet with less effect on solid tumors. TCR-T therapy has displayed some advantage over CAR-T therapy in treating solid tumors with inspiring clinical data. However, TCR-T therapy is faced with some challenges, including the selection of tumor-specific/associated antigens, selection and optimization of tumor-specific TCR, the persistence of TCR-T, and the safety of TCR-T therapy. This paper reviews the current development of TCR-T therapy and application of its preclinical animal models, and also discusses the progress made in the research on preclinical animal models employed to overcome the restrictive factors of TCR-T therapy, in the hope that TCR-T therapy will eventually benefit more cancer patients in the future.

**[Key words]** TCR-T cell therapy; preclinical animal model; solid tumor

过继性细胞疗法 (adoptive cell therapy, ACT) 在癌症治疗方面具有巨大的应用价值, 它通过基因修饰技术对天然 T 细胞进行改造, 使它们能够特异性识别肿瘤以获得肿瘤杀伤能力<sup>[1]</sup>。ACT 主要包括

肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs) 疗法、自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 疗法、T 细胞受体工程化 T 细胞 (T cell receptor-engineered T cells, TCR-T) 疗法和嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T cells, CAR-T) 疗法等。目前, CAR-T 和 TCR-T 疗法应用最广。

CAR-T 疗法已被证实可用于复发或难治性 B 细胞淋巴瘤如急性淋巴细胞白血病、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤的治疗<sup>[2-4]</sup>。目前, 美国

**接受日期:** 2021-05-31

**项目资助:** 国家重点研发计划 (No. 2019YFA0111001)

**\* 通信作者:** 王峰鹏, 教授;

**研究方向:** T 细胞信号转导与工程化;

**Tel:** 021-20685022; **E-mail:** wanghp@shanghaitech.edu.cn

FDA 总共批准了 5 款 CAR-T 治疗产品, 为肿瘤患者带来了新的希望。尽管 CAR-T 疗法在血液瘤的治疗中显示出卓越的疗效, 但对于实体瘤的治疗效果却不尽如人意。CAR-T 疗法通过识别膜表面抗原而发挥作用, 而近 90% 的恶性实体肿瘤缺乏膜表面特异性抗原, TCR-T 疗法则能够识别细胞内来源的肿瘤特异性抗原。这也意味着, TCR-T 疗法拥有更多的肿瘤潜在靶点选择, 能更好地减少免疫逃逸, 最终更有效地实现肿瘤细胞的特异性免疫应答, 达到精准治疗的目的。因此, 目前 TCR-T 疗法是最有可能在实体瘤治疗中取得突破的 T 细胞免疫疗法。本文将聚焦于现有 TCR-T 疗法相关的非临床研究动物模型以及 TCR-T 疗法临床发展现状, 并进一步探讨了动物模型在克服 TCR-T 疗法当前限制性因素中的相关应用, 为提高其临床治疗效果提供高效且广谱的解决方案。

## 1 T 细胞受体工程化 T 细胞疗法简述

TCR-T 疗法是一种通过工程化改造 T 细胞, 从而实现对肿瘤患者进行治疗的过继性免疫疗法。TCR-T 疗法通过直接赋予 T 细胞特异性识别结合肿瘤抗原的 TCR, 使得原本无肿瘤识别能力的 T 细胞能够有效地识别并杀伤肿瘤细胞, 治疗的基本步骤为: 首先, 从患者的外周血中分离纯化出 T 细胞; 继而利用基因工程技术, 将识别肿瘤特异抗原的 TCR 基因序列导入患者自身 T 细胞中, 获得特异识别肿瘤抗原的 TCR-T; 之后, 将 TCR-T 通过体外培养进行大量扩增; 最后, 扩增得到的 TCR-T 被回输到患者体内对肿瘤细胞进行杀伤, 从而达到治疗肿瘤的目的。细胞内在的抗原递呈机制使 TCR-T 可针对细胞胞内抗原 (占全部抗原的 90%) 而不局限在细胞表面抗原 (仅占 10%)。因此, TCR-T 可以靶向大部分的肿瘤特异性或相关性抗原, 这使其对肿瘤的识别范围比抗体类药物以及依靠抗体识别肿瘤的 CAR-T 的应用范围更广。TCR-T 依赖天然的 TCR 发挥作用, 意味着其抗原亲和力以及信号强度都要弱于 CAR-T, 这使得 TCR-T 的持久性和浸润性要优于 CAR-T, 从而在实体瘤的治疗中优于 CAR-T 疗法。

TCR-T 疗法的出现要早于 CAR-T 疗法。20 世纪 90 年代, 来自美国国家癌症研究所 (NCI) 和华盛顿大学的研究人员最早提出了 T 细胞的治疗用途, 首次从人外周血中分离出抗原特异性 T 细胞, 并过继性回输给肿瘤或病毒感染的患者体内, 取得了一定的临床治疗效果<sup>[5]</sup>。多项临床试验表明, 体外扩增的 TILs 可用于治疗人类癌症, 如恶性黑色素瘤<sup>[6-7]</sup> 或卵巢癌<sup>[8]</sup>。NCI 研究人员对 TILs 靶向肿瘤的治疗潜力进行了验证, 结果显示该方法在 72% 的转移性黑色素瘤患者中产生了客观反应<sup>[9]</sup>。然而, TILs 对其他恶性肿瘤的治疗成功率非常有限, 主要原因是大多数癌症患者体内很难被分离出肿瘤特异性 T 细胞, 另外获得足够数量 T 细胞需要相当长的时间。正是这些原因推动了 TCR-T 技术的发展, 使得产生抗原特异性 T 细胞成为可能。此后, TCR-T 疗法在转移性黑色素瘤、结直肠癌、滑膜肉瘤和多发性骨髓瘤患者中均显示出良好的临床效果, 表明 TCR-T 疗法在实体瘤的治疗中具有很好的应用前景<sup>[10-14]</sup>。

## 2 T 细胞受体工程化 T 细胞疗法非临床研究动物模型

为了验证和优化 TCR-T 疗法在临床应用中的安全性和有效性, 研究人员需要建立非临床研究的动物模型, 并对治疗效果进行验证和评估。在利用 TCR-T 疗法进行治疗的过程中, 存在的安全性问题或不良反应主要包括: 靶标毒性 (on-target toxicity), 指 TCR-T 攻击肿瘤细胞的同时也攻击表达 TCR-T 靶向抗原的正常细胞, 使得健康组织受损; 脱靶毒性 (off-target toxicity), 指 TCR-T 无法区分肿瘤细胞表面特异性抗原和正常细胞抗原, 损伤了表达与靶点相似抗原表位的健康组织; 细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS), 指工程化的 T 细胞完成输注后, 使得 T 细胞被激活并快速增殖, 引起细胞因子的过度级联释放, 是一种严重的过度免疫应答。建立合适的临床前治疗模型, 可以加快 TCR-T 疗法的开发和应用, 最大程度避免临床试验中可能出现的安全问题。目前, 在 TCR-T 疗法的研究中主要使用 2 种啮齿

类动物模型: 一是同基因型小鼠模型, 使用小鼠 T 细胞和小鼠抗原, 具有保留着完整免疫系统的优点; 二是异种移植瘤小鼠模型, 使用免疫缺陷型小鼠和人源 T 细胞及人源肿瘤细胞, 具有能够研究人源细胞的优点<sup>[15-16]</sup>。此外, 在 CAR-T 疗法的研究中, 灵长类动物模型也被用于评估该疗法的有效性和安全性。例如, 在分别以 ROR1, L1CAM 以及 CD20 等肿瘤抗原为靶点的 CAR-T 临床前研究中, 均使用了灵长类动物作为模型, 它们为这些 CAR-T 产品的安全性提供了有价值的信息<sup>[17-19]</sup>。相比小鼠模型, 灵长类动物的免疫系统与人类更相似, 其模型更接近患者体内的情况。灵长类动物模型在 CAR-T 疗法中的应用对于 TCR-T 临床前治疗模型的构建具有很大的参考价值, 相信未来会有更多种类的动物模型在 TCR-T 疗法临床前研究中得到应用。

随着 TCR-T 疗法的不断发展, 已有多种用于研究的小鼠肿瘤模型被成功构建, 包括表达 T 细胞识别的黑色素瘤抗原 1 (melanoma-associated antigen recognized by T cells 1, MART-1) 的黑色素瘤模型<sup>[20-21]</sup>、表达纽约食管鳞状细胞癌 1 (New York esophageal squamous cell carcinoma 1, NY-ESO-1) 抗原的小鼠肿瘤模型<sup>[22]</sup>、表达糖蛋白 100 (glycoprotein 100, gp100) 抗原的小鼠肿瘤模型<sup>[23]</sup>、表达癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 的结肠癌小鼠模型<sup>[24]</sup>、表达 p53 抗原的骨肉瘤小鼠模型<sup>[25]</sup>、爱泼斯坦-巴尔二氏病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 相关的小鼠肿瘤模型<sup>[26]</sup>、人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 相关的头颈部鳞状细胞癌小鼠模型<sup>[27]</sup>、乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 相关的肝癌小鼠模型<sup>[28]</sup>等。研究人员在构建 MART-1, NY-ESO-1, p53 等肿瘤模型时, 一般先将  $3 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$  个肿瘤细胞通过皮下注射的方式种植在免疫缺陷型小鼠皮下, 而 gp100, CEA, EBV, HPV, HBV 等模型的肿瘤细胞种植数目相对较少, 一般在  $5 \times 10^5 \sim 10 \times 10^5$  个细胞左右。模型构建的下一步需要根据肿瘤生长状况选择合适的时间点, 将工程化改造后的肿瘤特异性 TCR-T 通过尾静脉注射的方式转移至小鼠模型

体内。MART-1, NY-ESO-1, EBV 等模型一般会在移植肿瘤细胞 3~5 周后输入 TCR-T, 而 gp100, CEA, p53, HPV, HBV 等模型会在移植肿瘤细胞 1~2 周后静脉注入 TCR-T。此外, 不同的肿瘤模型需要输入的 TCR-T 数目也会存在差异。MART-1, NY-ESO-1, gp100, HBV 等肿瘤模型一般在输入  $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$  个 TCR-T 后, 便会达到良好的肿瘤杀伤效果, 而 CEA, p53, EBV, HPV 等模型一般需要静脉注入  $5 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$  个 TCR-T 才能达到理想的体内抗肿瘤功效。在构建肿瘤模型以及体内试验的整个过程中, 需要对肿瘤的生长状况进行定期监测, 最常用的 2 种监测方式是活体成像和游标卡尺测量肿瘤。目前, 业内尚未建立起动物模型和临床治疗之间的 TCR-T 回输剂量关系。临床上在对患者进行 TCR-T 治疗时, 回输细胞数目主要依据患者的体质量来确定, 相较于 CAR-T, TCR-T 回输的数量要高 100~1 000 倍, 大多集中在  $10^9 \sim 10^{10}$  个细胞之间。此外, TCR-T 疗法的回输剂量标准尚未建立, 并且因细胞回输剂量过大而引起细胞毒性现象的研究少见。与 CAR-T 疗法相比, TCR-T 疗法引起 CRS 的程度更低, 但若是过量的 T 细胞回输后导致 T 细胞激活并快速增殖必然会引起细胞因子过度级联释放。因此, 未来可以参考 CAR-T 疗法的剂量爬坡试验评估 TCR-T 疗法的临床安全性和有效性。

构建小鼠模型开展临床前相关研究是实现基础研究转化至临床应用的重要桥梁。临床数据显示, 在接受 CEA 特异性 TCR-T 治疗的患者中观察到的细胞毒性与在 CEA 小鼠模型中观察到的毒性高度相似, TCR-T 除了发挥抗肿瘤功能外, 还破坏了正常的结肠组织, 类似于自身免疫性结肠炎<sup>[29]</sup>。在 *Pmel-1* TCR 转基因小鼠模型中, 使用 gp100 特异性 TCR-T 治疗后, 引起了小鼠的眼部损伤, 这与接受 gp100 特异性 TCR-T 治疗的黑色素瘤患者中出现的状况基本相似<sup>[30]</sup>。以上结果表明, 在进行 TCR-T 疗法临床试验前, 小鼠肿瘤模型构建的必要性。动物模型的构建能够评估 TCR-T 疗法的治疗潜力, 预测 TCR-T 疗法的细胞毒性, 为临床试验的安全有效进行提供保障。

### 3 T 细胞受体工程化 T 细胞疗法临床研究现状

2006 年, Morgan 等<sup>[10]</sup>首次报道了针对黑色素瘤患者的 TCR-T 疗法。研究人员使用 RNA 电穿孔的方法给患者的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)转导了 4 种编码 TCR 的 RNA, 它们分别能够识别 MART-1:27-35, gp100:209-217, NY-ESO-1:157-165 和 p53:264-272 肽/人类白细胞抗原 A2 (human leukocyte antigen A2, HLA-A2) 复合物; 依据实体瘤反应评估标准(RECIST)评估后, 发现经过治疗的 17 例黑色素瘤患者对 TCR-T 疗法产生了不同程度响应, 其中 2 例表现出转移性黑色素瘤的持续客观消退, 1 例在接受治疗后出现了腋下肿块完全消退, 肝脏肿块也减少了 89%, 治疗后第 21 个月, 该患者仍未表现出疾病进展; 另 1 例患者的肺门肿块出现消退, 治疗后第 20 个月仍无疾病进展。Johnson 等<sup>[11]</sup>使用高亲和力的 MART-1 (AAGIGILTV) 特异性 TCR 治疗 20 例转移性黑色素瘤患者, 其中 6 例(30%)出现了客观的癌症消退, 肺部、脑部、肝部和皮肤的肿瘤明显缩小。

Robbins 等<sup>[13]</sup>报道的靶向滑膜细胞肉瘤和黑色素瘤抗原 NY-ESO-1 的 TCR-T 疗法的临床试验结果显示, 4 例(67%)滑膜细胞肉瘤患者和 11 例(45%)黑色素瘤患者均出现了客观临床反应, 其中有 2 例黑色素瘤患者表现出完全消退, 1 例滑膜细胞肉瘤患者表现出持续 18 个月的部分反应。2015 年, Robbins 等<sup>[14]</sup>报道了一项使用亲和力增强的 TCR 识别 NY-ESO-1 (SLLMWITQC) 的临床试验结果: 将 TCR 通过逆转录病毒转导入了 18 例滑膜细胞肉瘤患者和 20 例黑色素瘤患者的 PBMC 中, 18 例 NY-ESO-1 阳性滑膜细胞肉瘤患者中的 11 例(61%)和 20 例 NY-ESO-1 阳性黑色素瘤的患者中的 11 例(55%)表现出了客观的临床反应。

Parkhurst 等<sup>[31]</sup>报道了针对结肠癌患者的 TCR-T 疗法临床试验结果, 该项试验使用了靶向结肠癌高表达抗原 CEA (一种糖基化蛋白, 在多种胃肠道癌细胞中高表达) 的 TCR (IMIGVLGV), 临床结果显示, 对其他疗法无效的 3 例转移性结直肠癌患者接受了 TCR-T 疗法后, 均检测到 CEA 水

平的显著降低, 且 1 例患者肺和肝转移性肿瘤客观消退。Kageyama 等<sup>[32]</sup>报道了靶向黑色素瘤抗原家族 A4 (melanoma antigen family A4, MAGE-A4) (NYKRCFPVI) 的 TCR-T 疗法在 10 例对于常规治疗手段如放疗和化疗等响应较差或不响应的食管癌复发患者中的临床试验结果, 这些患者在接受治疗后短期内肿瘤缩小, 3 例病情最轻微的患者在未接受其他治疗的情况下, 1 年后疾病不再进展。Nagarsheth 等<sup>[33]</sup>报道了靶向 HPV 的 TCR-T 疗法临床试验结果: 与 HPV 相关的恶性肿瘤是典型的上皮癌, 包括宫颈癌、口咽癌、肛门癌、外阴癌、阴道癌和阴茎癌均表达 HPV E7 抗原, 有助于恶性转化和癌细胞存活, HPV E7 抗原可作为工程 T 细胞的治疗靶点; 12 例转移性 HPV-16 阳性癌症患者中 8 例曾接受程序化细胞死亡蛋白 1 (PD-1) 免疫治疗、1 例曾接受 LN-145 细胞治疗, 效果均不理想, 接受靶向 TCR 的 HPV-16 E7 工程改造的 T 细胞 (E7 TCR-T) 治疗后, 6 例出现了明显的肿瘤消退。

综上所述, 在这些 TCR-T 疗法的临床试验中, 针对同种肿瘤的不同试验的临床客观性也会出现差异, 这与针对同一抗原的不同 TCR 的选择和 TCR-T 制备工艺之间的差异有关。表 1 显示了目前已完成的关于 TCR-T 疗法的临床试验结果。

### 4 动物模型在克服 T 细胞受体工程化 T 细胞疗法挑战中的应用

尽管已有部分肿瘤患者从 TCR-T 疗法中获益<sup>[34]</sup>, 但作为一种新的肿瘤治疗方式, TCR-T 疗法仍然具有一定的局限性。其限制性因素主要包括: 靶向抗原的选择、肿瘤特异性 TCR 的开发、T 细胞的体内持久性和 TCR-T 疗法的临床安全性等。为了更加安全有效地对肿瘤患者进行治疗, 可以通过以下策略在非临床研究的动物模型中预测改善后的 TCR-T 疗法的抗肿瘤功效和临床安全性。

#### 4.1 选择 T 细胞受体工程化 T 细胞靶向抗原

在 TCR-T 治疗过程中, 第一步是选择最合适的肿瘤抗原作为 TCR 靶标。目前, 主要存在 3 种类型的肿瘤抗原: 存在于健康组织但在癌细胞中高表达的肿瘤相关抗原 (tumor-associated

antigens, TAAs); 在癌细胞、睾丸、胎儿卵巢和滋养层细胞中表达的癌睾丸抗原<sup>[35]</sup> (cancer testis antigens, CTAs); 仅在癌细胞中表达的肿瘤特异

性抗原 (tumor-specific antigens, TSAs) 如新抗原 (neoantigen) 和致癌病毒产生的抗原, 但在健康组织中不表达。

表 1 已完成的 T 细胞受体工程化 T 细胞疗法临床试验结果

Table 1 Results of conducted clinical trials of T cell receptor-engineered T cells therapy

TCR-T 靶点	HLA 分型	肿瘤类型	客观临床响应率 (%)	患者数目
MART-1	HLA-A*0201	黑色素瘤	2/17(12%)	17
MART-1	HLA-A*0201	黑色素瘤	6/20(30%)	20
MART-1	HLA-A*0201	转移性黑色素瘤	9/13(69%)	13
gp100	HLA-A*0201	黑色素瘤	3/16(17%)	16
NY-ESO-1	HLA-A*0201	黑色素瘤	5/11(45%)	11
		滑膜肉瘤	4/6(67%)	6
CEA	HLA-A*0201	转移性结直肠癌	1/3(33%)	3
		转移性黑色素瘤		7
MAGE-A3	HLA-A*0201	滑膜肉瘤	5/9(56%)	1
		食管癌		1
MAGE-A4	HLA-A*2402	食管癌	0/10(0%)	10
NY-ESO-1	HLA-A*0201	滑膜肉瘤	11/18(61%)	18
		黑色素瘤	11/20(55%)	20
NY-ESO-1	HLA-A*0201	多发性骨髓瘤	16/20(80%)	20
<i>WT-1</i>	HLA-A*2402	急性粒细胞白血病	2/8(25%)	8
NY-ESO-1	HLA-A*0201	骨髓瘤		2
		转移性肉瘤	3/3 (100%)	1
HPV-E7	HLA-A*0201	HPV 16 阳性癌症	6/12(50%)	12

TCR-T: T cell receptor-engineered T cells (T 细胞受体工程化 T 细胞); HLA: human leukocyte antigen (人类白细胞抗原); MART-1: melanoma antigen recognised by T cells 1 (T 细胞识别的黑色素瘤抗原 1); gp100: glycoprotein 100 (糖蛋白 100); NY-ESO-1: New York esophageal squamous cell carcinoma 1 (纽约食管鳞状细胞癌 1); CEA: carcinoembryonic antigen (癌胚抗原); MAGE-A: melanoma antigen family A (黑色素瘤抗原家族 A); *WT-1*: Wilms' tumor gene 1 (威尔姆斯瘤基因 1); HPV: human papilloma virus (人乳头瘤病毒)

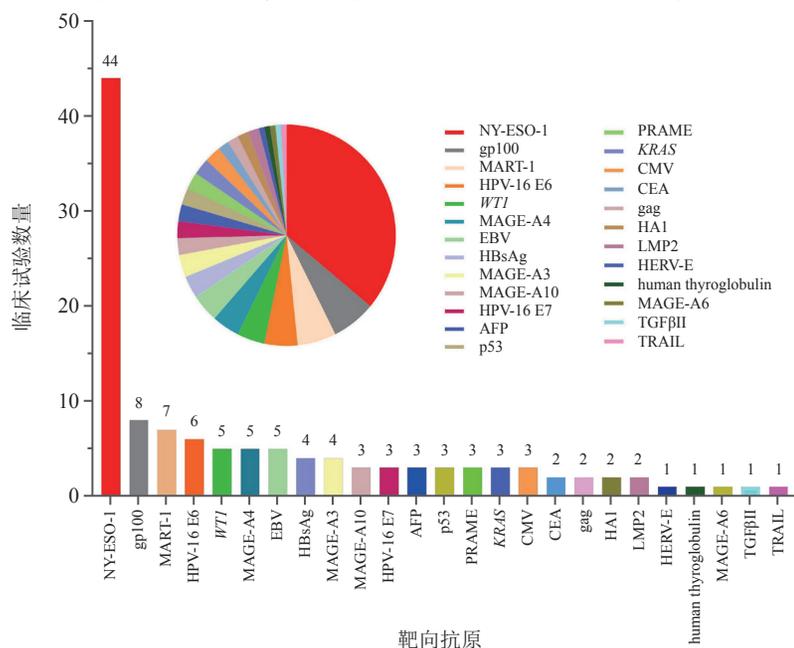
目前, 已有部分理想的肿瘤抗原短肽被发现, 以用于 TCR-T 技术的开发。在这些抗原肽中, NY-ESO-1 多次被证实是安全有效的肿瘤抗原之一, 靶向该种抗原的 TCR-T 临床试验占 30% 以上。人乳头瘤病毒 HPV-16 中的 E6 和 E7 蛋白是肿瘤特异性抗原, 与宫颈癌的发生密切相关, 针对这 2 种抗原的 TCR-T 临床试验在这几年也迅速增加。此外, 许多 TAAs, CTAs 或 TSAs 可用于 TCR-T 治疗, 例如 MART-1, 威尔姆斯瘤基因 1 (Wilms' tumor gene 1, *WT-1*), 乙型肝炎表面抗原 (hepatitis B surface antigen, HBsAg), 甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP), MAGE (A3, A4, A6, A10), 黑色素瘤优先表达抗原 (preferentially expressed antigen in melanoma, PRAME), 巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV), EBV, 糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, gag), gp100, 红血球凝集素 1 (hemagglutinin-1,

HA1), 人内源性逆转录病毒 E (human endogenous retroviruses-E, HERV-E), 大型多功能肽酶 2 (large multifunctional peptidase 2, LMP2), CEA, p53 等<sup>[1]</sup>, 靶向这些抗原的临床试验也正在进行 (见图 1)。肿瘤新抗原由点突变、染色体易位和其他类型的致癌基因改变产生, 这些抗原在除了肿瘤细胞外任何其他健康组织中均不存在, 可作为 TCR-T 的靶点, 而无脱靶毒性<sup>[36]</sup>。基因组测序、质谱分析技术和数据分析技术的进步促进了个体癌症特有的特异性新抗原的鉴定, 使得自体 TCR-T 能够对具有临床活性的新抗原产生反应<sup>[37-39]</sup>。尽管有许多新抗原是通过经典突变产生的, 但其他一些由翻译后修饰 (例如磷酸化或甲基化) 产生的新抗原也可以被 TCR-T 靶向<sup>[40-41]</sup>。

为了确保 TCR-T 疗法的安全性和有效性, 原则上应该选择仅在癌细胞中表达的肿瘤特异性抗原作

为理想靶标。筛选出的肿瘤抗原短肽在进入临床应用前需要在动物模型中验证其肿瘤特异性,证实这

些抗原短肽是否仅在肿瘤细胞中表达,最大程度地减小 TCR-T 疗法在临床治疗中潜在的脱靶毒性。



NY-ESO-1: New York esophageal squamous cell carcinoma 1 (纽约食管鳞状细胞癌 1); gp100: glycoprotein 100 (糖蛋白 100); MART-1: melanoma antigen recognised by T cells 1 (T 细胞识别的黑色素瘤抗原 1); HPV: human papilloma virus (人乳头瘤病毒); WT-1: Wilms' tumor gene 1 (威尔姆斯瘤基因 1); MAGE-A: melanoma antigen family A (黑色素瘤抗原家族 A); EBV: Epstein-Barr virus (爱泼斯坦-巴尔二氏病毒); HBsAg: hepatitis B surface antigen (乙型肝炎表面抗原); AFP: alpha-fetoprotein (甲胎蛋白); PRAME: preferentially expressed antigen in melanoma (黑色素瘤优先表达抗原); KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene (鼠类肉瘤病毒癌基因); CMV: cytomegalovirus (巨细胞病毒); CEA: carcinoembryonic antigen (癌胚抗原); gag: glycosaminoglycan (糖胺聚糖); HA1: hemagglutinin 1 (红血球凝集素 1); LMP2: large multifunctional peptidase 2 (大型多功能肽酶 2); HERV-E: human endogenous retroviruses E (人内源性逆转录病毒 E); human thyroglobulin: 人甲状腺球蛋白; TGFβII: transforming growth factor-β type II (转化生长因子-β II 型); TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand (肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体)

数据来源: <https://www.clinicaltrials.gov> (截止日期: 2021 年 5 月 22 日)

图 1 T 细胞受体工程化 T 细胞疗法的临床试验靶向抗原分布

Figure 1 Distribution of targeted antigens of TCR-T clinical therapy

#### 4.2 肿瘤特异性 T 细胞受体的开发与优化

找到合适的肿瘤特异性抗原只解决了问题的一半, 因为要筛选出靶向抗原的最适 TCR 也存在一定的挑战性。分离出肿瘤反应性 T 细胞需要选择合适的细胞来源, 并且理想的 T 细胞要具有合适亲和力的 TCR 和显著的 TCR 表达频率与纯度, 这些先决条件是成功开发出肿瘤特异性 TCR 的基础。获得肿瘤特异性 T 细胞后, 在 TCR 测序中面临的最大挑战是每个 T 细胞肿瘤特异性 TCR 的  $\alpha$  和  $\beta$  链的正确配对。高通量测序技术的引入可以使研究人员分析样品中数百万个 TCR 分子的多样性, 通过这种方法可以获得所有 TCR 序列以构成样本库<sup>[42-44]</sup>。目前, 获得特异性 TCR 最快的方法是将单细胞 TCR 测序与带有特定人类白细胞抗原 (human leukocyte

antigen, HLA) 分子和选定肿瘤表位的条形码样多聚体结合起来, 从而显著加快从人类样品中分离 TCR 的速度, 避免任何富集步骤, 并直接能够进行 TCR 序列的功能验证<sup>[45]</sup>。

TCR 的亲合力被证实与 TCR-T 功能直接相关<sup>[46-48]</sup>。高亲和力的 TCR 已被用于大多数临床试验, 因为它们能够以较低的表达水平识别肿瘤细胞, 但是高亲和力的 TCR 可能会导致自身免疫性疾病。一些研究表明, TCR 的亲合力处于低水平或中等水平也可以介导 T 细胞对肿瘤的杀伤, 并且不会诱发自身免疫性疾病<sup>[49-53]</sup>。Miller 等<sup>[49]</sup>研究发现, 分别将高亲合力或低亲合力卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 特异性 TCR-T 转移至卵巢癌小鼠模型后, 高亲和力的 TCR-T 在快速杀伤表达 OVA 的卵巢癌细胞的同时,

也造成了小鼠的自身免疫性糖尿病;然而,低亲和力的 TCR-T 同样能介导肿瘤细胞的清除,而没有产生自身免疫性疾病。目前,关于中低亲和力 TCR-T 的良好抗肿瘤功效,只在部分肿瘤中得以体现,比如卵巢癌<sup>[49]</sup>、黑色素瘤<sup>[50-51]</sup>等,仍需更多的证据来证明中低亲和力 TCR 应用的普遍性。此外,有研究发现,某些化学药品、细胞因子和放射疗法可以激活 HLA 信号通路并上调肿瘤细胞表面抗原肽和 HLA 复合物的表达<sup>[54-55]</sup>。因此,使用具有最佳亲和力的 TCR 可以特异性地消灭肿瘤细胞,而不会诱发自身免疫性疾病,并且 TCR-T 疗法与其他疗法联合使用的组合治疗方案有望实现治疗效果最大化。

### 4.3 改善 T 细胞体内持久性

目前,工程化改造后的 T 细胞存在着体内持久性受限的问题。无论是传统的免疫细胞疗法,还是 TCR-T 疗法及 CAR-T 疗法, T 细胞都需要在体外经刺激活化,大量增殖分化成为终末分化效应 T 细胞 (effector T cell) 后输回体内。回输的 T 细胞无增殖分化能力,且长期的体外刺激活化,使 T 细胞逐渐进入耗竭状态 (T cell exhaustion),回输体内后容易走向死亡,而难以在体内发挥持久的抗肿瘤效应<sup>[56]</sup>。研究显示,记忆 T 细胞是一群低分化状态的异质性 T 细胞亚群,在持续对抗肿瘤或遇到复发肿瘤时能快速增殖分化产生效应 T 细胞而有效清除肿瘤细胞,在肿瘤免疫应答和免疫记忆维持中发挥重要作用<sup>[57]</sup>。

记忆 T 细胞在不同强度的信号刺激下,可根据表型、功能和转录本数据归为干细胞记忆 T 细胞 (stem cell memory T cell, T<sub>SCM</sub>)、中枢记忆 T 细胞 (central memory T cell, T<sub>CM</sub>)、效应记忆 T 细胞 (effector memory T cell, T<sub>EM</sub>) 及组织驻留记忆 T 细胞 (tissue resident memory T cell, T<sub>RM</sub>) 亚群<sup>[58]</sup>。Gattinoni 等<sup>[59]</sup>发现, naïve T 细胞激活分化后产生的 T<sub>SCM</sub> 仍具有 naïve T 细胞的表型,如 CD45RA, CD62L 及 CCR7,又有激活后 T 细胞的表型,如 CD95, IL2R $\beta$  和 IL15R $\beta$ 。作为记忆细胞, T<sub>SCM</sub> 能快速地分泌细胞因子,响应 IL-15 快速地增殖,是一群自我更新能力最强的记忆 T 细胞亚群。Xu 等<sup>[60]</sup>研究表明,在有 IL-15 和 IL-7 条件下体外培养 T 细胞时,能获得更高比例 T<sub>SCM</sub> 亚群,在小鼠肿瘤模

型中的存活持续时间和抗肿瘤效果更好。T<sub>CM</sub> 表达 CD62L 和 CCR7,具有快速增殖和分化的特征,能够归巢至次级淋巴器官。T<sub>EM</sub> 表型为 CD62L<sup>-</sup>CCR7<sup>-</sup>,更倾向于分泌细胞毒因子,具有较强的溶瘤功能,可迁移至炎症组织中迅速发挥效应功能。T<sub>RM</sub> 为组织驻留性记忆 T 细胞,不参与循环,由于其浸润能力以及直接的杀伤效应,能快速响应局部组织抗感染和抗肿瘤,在抗实体瘤中有应用前景<sup>[61]</sup>。

除了在临床前小鼠模型中,低分化水平的记忆 T 细胞在临床上也展现出更好的治疗效果。2019 年,Chapuis 等<sup>[62]</sup>报道了靶向抗原 WT-1 的 TCR-T 疗法的临床试验结果,对于 TCR-T 疗法响应较好的患者体内,低分化水平的中枢记忆 T 细胞所占的比例更高。因此,可以通过改善细胞培养条件或工程化改造 T 细胞等手段,使回输的 TCR-T 中具有更高比例的记忆性 T 细胞,从而提高 T 细胞回输后在体内的持久性,进而增强 TCR-T 疗法的抗肿瘤功效。

### 4.4 提高 T 细胞受体工程化 T 细胞疗法临床安全性

动物模型在提高 TCR-T 疗法的临床安全性方面起着关键作用。然而,在 TCR-T 疗法开发的过程中,这些动物模型也会出现无法准确预测细胞治疗毒性和移植物抗宿主反应等问题。Rapoport 等<sup>[63]</sup>在以癌睾丸抗原 NY-ESO-1 为靶标对多发性骨髓瘤患者进行治疗的临床结果显示,虽然 70% 的患者病情接近完全缓解,但有 5 例患者出现了自体移植物抗宿主反应。Morgan 等<sup>[64]</sup>在以黑色素瘤相关抗原 MAGE-A3 作为靶标的 TCR-T 临床试验结果显示,虽然部分患者出现缓解,但有 3 例患者出现了由脑部损害引起的精神障碍,其中 2 例受试者甚至面临死亡的危险,这是由于 MAGE-A3 TCR 交叉识别结合脑部正常组织中 MAGE-A12 抗原肽而导致的神经毒性。因此,不同肿瘤类型在选择特异性 TCR 时就意味着可能存在特定器官的毒性,如 MAGE3 TCR 在大脑和心脏中具有毒性。相较于 CAR-T,小鼠模型在预测 TCR 的脱靶或靶标毒性方面有所欠缺。因此,用于 TCR-T 疗法研究的临床前小鼠模型还需进一步的改进与优化。在构建肿瘤模型时,选择表达了人细胞因子的人源化小鼠品系 MITRG 和 MISTRG,为移植的人源细胞提供物种特异性细胞

因子支持, 可以更好地验证 TCR-T 疗法的治疗效果和临床安全性<sup>[65]</sup>。在 TCR-T 疗法的临床前研究中, 选择构建人源肿瘤异种移植 (patient-derived tumor xenograft, PDX) 小鼠模型, 将肿瘤患者的肿瘤组织移植至重症免疫缺陷型小鼠体内, 使小鼠模型能更真实地模拟患者的体内环境, 可为 TCR-T 治疗提供更精准的研究与评价工具<sup>[66]</sup>。此外, 为了真实反映与评价人源免疫细胞与肿瘤微环境在抗肿瘤免疫治疗中发挥的作用, 需要建立更加有效的人免疫反应体系小鼠模型。由于 TCR-T 发挥抗肿瘤作用离不开相关免疫细胞的参与, 因此, 构建含人源免疫细胞系统的人源化小鼠模型, 在有效验证与评估抗肿瘤免疫治疗效果中可发挥至关重要的作用。

除了在非临床研究的动物模型中验证 TCR-T 疗法的临床安全性之外, 还可以通过对 TCR-T 进行改造来增强 TCR-T 治疗的安全性。TCR-T 疗法在临床治疗中往往展现出较 CAR-T 疗法更低的副作用, 但脱靶效应造成的副作用仍阻碍着 TCR-T 疗法的发展。TCR-T 疗法对肿瘤患者进行治疗的过程中, 患者可能会出现 CRS 等严重的副作用, 并可能进一步引起致命的并发症。若肿瘤抗原在健康组织细胞中低表达, 则可能会引起 TCR-T 的靶点毒性, 导致健康细胞被 T 细胞杀伤<sup>[67]</sup>。此外, 外源 TCR 和 T 细胞内源 TCR 的错配也可能导致 TCR-T 的非特异性脱靶毒性, 而对正常组织造成严重损害<sup>[68]</sup>。此时, 自杀基因的引入可作为调节和优化 TCR-T 疗法的备

选策略。单纯疱疹病毒胸苷激酶 (*HSV-tk*) 是在临床上经过反复验证的一种自杀基因, 并被证明安全有效, 可以赋予 TCR-T 对更昔洛韦 (ganciclovir) 的致死敏感性<sup>[69-70]</sup>。其他自杀基因, 比如截短的人类表皮生长因子受体 (*tEGFR*) 和诱导型 Caspase 9 安全开关 (*iCasp9*) 也经常用于提高临床安全性的设计<sup>[71-72]</sup>。另外, 临床前需要严格评估肿瘤靶向抗原是否会在正常组织或器官中表达。比如, 在 AFP 特异性 TCR-T 疗法开展前, 可利用丙氨酸扫描评估 TCR-T 的特异性和安全性<sup>[73]</sup>。由于外源 TCR 在 T 细胞中表达时, 可能存在与内源 TCR 表达竞争和错配等问题, 可以利用基因编辑和 RNA 干扰等技术, 敲除或敲低内源性 TCR, 来避免这些问题<sup>[74-75]</sup>。

## 5 总结与展望

TCR-T 免疫疗法正在逐渐发展成为一种广泛适用, 且功能强大的癌症治疗手段。到目前为止, TCR-T 疗法已在部分实体瘤的治疗中取得了较好的临床效果, 特别是针对黑色素瘤和滑膜细胞肉瘤等的治疗。尽管 TCR-T 疗法为肿瘤患者带来了新的治疗选择和希望, 但是该疗法对于实体瘤的治疗还存在一些挑战, 包括靶向抗原的选择、肿瘤特异性 TCR 的开发、T 细胞的体内持久性和 TCR-T 疗法的临床安全性等。相信随着工程化改造 T 细胞研究的不断发展, 在不久的将来会有更多的肿瘤患者在 TCR-T 疗法中受益。

## 【参考文献】

- [1] Mo Z, Du P, Wang G, et al. The multi-purpose tool of tumor immunotherapy: gene-engineered T cells[J]. *J Cancer*, 2017, 8(9): 1690-1703.
- [2] Locke F L, Neelapu S S, Bartlett N L, et al. Phase 1 results of ZUMA-1: a multicenter study of KTE-C19 anti-CD19 CAR T cell therapy in refractory aggressive lymphoma[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(1): 285-295.
- [3] Maude S L, Barrett D, Teachey D T, et al. Managing cytokine release syndrome associated with novel T cell-engaging therapies[J]. *Cancer J*, 2014, 20(2): 119-122.
- [4] Porter D L, Hwang W T, Frey N V, et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(303): 139-303.
- [5] Greenberg P D, Finch R J, Gavin M A, et al. Genetic modification of T cell clones for therapy of human viral and malignant diseases[J]. *Cancer J Sci Am*, 1998, 4(Suppl 1): S100-S105.
- [6] Aebbersold P, Hyatt C, Johnson S, et al. Lysis of autologous melanoma cells by tumor-infiltrating lymphocytes: association with clinical response[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1991, 83(13): 932-937.
- [7] Fisher B, Packard B S, Read E J, et al. Tumor localization of adoptively transferred indium-111 labeled tumor infiltrating lymphocytes in patients with metastatic melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 1989, 7(2): 250-261.

- [8] Aoki Y, Takakuwa K, Kodama S, *et al.* Use of adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes alone or in combination with cisplatin-containing chemotherapy in patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 1991, 51(7): 1934–1939.
- [9] Rosenberg S A, Yang J C, Sherry R M, *et al.* Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(13): 4550–4557.
- [10] Morgan R A, Dudley M E, Wunderlich J R, *et al.* Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes[J]. *Science*, 2006, 314(5796): 126–129.
- [11] Johnson L A, Morgan R A, Dudley M E, *et al.* Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen[J]. *Blood*, 2009, 114(3): 535–546.
- [12] Parkhurst M R, Yang J C, Langan R C, *et al.* T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(3): 620–626.
- [13] Robbins P F, Morgan R A, Feldman S A, *et al.* Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(7): 917–924.
- [14] Robbins P F, Kassim S H, Tran T L, *et al.* A pilot trial using lymphocytes genetically engineered with an NYESO-1-reactive T-cell receptor: long-term follow-up and correlates with response[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(5): 1019–1027.
- [15] Hwu P, Yang J C, Cowherd R, *et al.* *In vivo* antitumor activity of T cells redirected with chimeric antibody/T-cell receptor genes[J]. *Cancer Res*, 1995, 55(15): 3369–3373.
- [16] Barrett D M, Singh N, Liu X, *et al.* Relation of clinical culture method to T-cell memory status and efficacy in xenograft models of adoptive immunotherapy[J]. *Cytotherapy*, 2014, 16(5): 619–630.
- [17] Berger C, Sommermeyer D, Hudecek M, *et al.* Safety of targeting ROR1 in primates with chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(2): 206–216.
- [18] Künkele A, Taraseviciute A, Finn L S, *et al.* Preclinical assessment of CD171-directed CAR T-cell adoptive therapy for childhood neuroblastoma: CE7 epitope target safety and product manufacturing feasibility[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(2): 466–477.
- [19] Siegler E L, Wang P. Preclinical models in chimeric antigen receptor-engineered T-cell therapy[J]. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(5): 534–546.
- [20] Hu Z, Xia J, Fan W, *et al.* Human melanoma immunotherapy using tumor antigen-specific T cells generated in humanized mice[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(6): 6448–6459.
- [21] Leisegang M, Kammertoens T, Ueckert W, *et al.* Targeting human melanoma neoantigens by T cell receptor gene therapy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(3): 854–858.
- [22] Poncette L, Chen X, Lorenz F K, *et al.* Effective NY-ESO-1-specific MHC II-restricted T cell receptors from antigen-negative hosts enhance tumor regression[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(1): 324–335.
- [23] Hanada K I, Yu Z, Chappell G R, *et al.* An effective mouse model for adoptive cancer immunotherapy targeting neoantigens[J/OL]. *JCI Insight*, 2019, 4(10): e124405[2021-05-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31092734/>. DOI: 10.1172/jci.insight.124405.
- [24] Bacac M, Fauti T, Sam J, *et al.* A novel carcinoembryonic antigen T-cell bispecific antibody (CEA TCB) for the treatment of solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(13): 3286–3297.
- [25] Echchannaoui H, Petschenka J, Ferreira E A, *et al.* Potent tumor-reactive p53-specific single-chain TCR without on- or off-target autoimmunity *in vivo*[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(1): 261–271.
- [26] Wirtz T, Weber T, Kracker S, *et al.* Mouse model for acute Epstein-Barr virus infection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(48): 13821–13826.
- [27] Jin B Y, Campbell T E, Draper L M, *et al.* Engineered T cells targeting E7 mediate regression of human papillomavirus cancers in a murine model[J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(8): e99488[2021-05-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29669936/>. DOI: 10.1172/jci.insight.99488.
- [28] Koh S, Shimasaki N, Suwanarusk R, *et al.* A practical approach to immunotherapy of hepatocellular carcinoma using T cells redirected against hepatitis B virus[J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2013, 2(8): e114[2021-05-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23941866/>. DOI: 10.1038/mtna.2013.43.
- [29] Bos R, van Duikeren S, Morreau H, *et al.* Balancing between antitumor efficacy and autoimmune pathology in T-cell-mediated targeting of carcinoembryonic antigen[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8446–8455.
- [30] Palmer D C, Chan C C, Gattinoni L, *et al.* Effective tumor treatment targeting a melanoma/melanocyte-associated antigen triggers severe ocular autoimmunity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(23): 8061–8066.
- [31] Parkhurst M R, Yang J C, Langan R C, *et al.* T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis[J]. *Mol Ther*,

- 2011, 19(3): 620-626.
- [32] Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, *et al.* Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene-transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(10): 2268-2277.
- [33] Nagarsheth N B, Norberg S M, Sinkoe A L, *et al.* TCR-engineered T cells targeting E7 for patients with metastatic HPV-associated epithelial cancers[J]. *Nat Med*, 2021, 27(3): 419-425.
- [34] Li D, Li X, Zhou W L, *et al.* Genetically engineered T cells for cancer immunotherapy[J/OL]. *Signal Transduct Tar*, 2019, 4: 35[2021-05-31]. <https://www.nature.com/articles/s41392-019-0070-9>. DOI: 10.1038/s41392-019-0070-9.
- [35] Simpson A J, Caballero O L, Jungbluth A, *et al.* Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8): 615-625.
- [36] Schumacher T N, Scheper W, Kvistborg P, *et al.* Cancer neoantigens[J/OL]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 173-200[2021-05-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30550719/>. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042617-053402.
- [37] Bassani-Sternberg M, Bräunlein E, Klar R, *et al.* Direct identification of clinically relevant neoepitopes presented on native human melanoma tissue by mass spectrometry[J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13404[2021-05-31]. <https://www.nature.com/articles/ncomms13404>. DOI: 10.1038/ncomms13404.
- [38] Cohen C J, Gartner J J, Horovitz-Fried M, *et al.* Isolation of neoantigen-specific T cells from tumor and peripheral lymphocytes[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(10): 3981-3991.
- [39] Kalaora S, Barnea E, Merhavi-Shoham E, *et al.* Use of HLA peptidomics and whole exome sequencing to identify human immunogenic neo-antigens[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 5110-5117.
- [40] Alpizar A, Marino F, Ramos-Fernández A, *et al.* A molecular basis for the presentation of phosphorylated peptides by HLA-B antigens[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2017, 16(2): 181-193.
- [41] Marino F, Mommen G P, Jeko A, *et al.* Arginine (di)methylated human leukocyte antigen class I peptides are favorably presented by HLA-B\*07[J]. *J Proteome Res*, 2016, 16(1): 34-44.
- [42] Robins H S, Campregher P V, Srivastava S K, *et al.* Comprehensive assessment of T-cell receptor b-chain diversity in alphabeta T cells[J]. *Blood*, 2009, 114(19): 4099-4107.
- [43] Linnemann C, Heemskerck B, Kvistborg P, *et al.* High-throughput identification of antigen-specific TCRs by TCR gene capture[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1534-1541.
- [44] Ruggiero E, Nicolay J P, Fronza R, *et al.* High-resolution analysis of the human T-cell receptor repertoire[J/OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8081[2021-05-31]. <https://www.nature.com/articles/ncomms9081>. DOI: 10.1038/ncomms9081.
- [45] Bentzen A K, Marquard A M, Lyngaa R, *et al.* Large-scale detection of antigen-specific T cells using peptide-MHCI multimers labeled with DNA barcodes[J]. *Nat Biotechnol*, 2016, 34(10): 1037-1045.
- [46] Zeh H J 3rd, Perry-Lalley D, Dudley M E, *et al.* High avidity CTLs for two self-antigens demonstrate superior *in vitro* and *in vivo* antitumor efficacy[J]. *J Immunol*, 1999, 162(2): 989-994.
- [47] Derby M, Alexander-Miller M, Tse R, *et al.* High-avidity CTL exploit two complementary mechanisms to provide better protection against viral infection than low-avidity CTL[J]. *J Immunol*, 2001, 166(3): 1690-1697.
- [48] Labrecque N, Whitfield L S, Obst R, *et al.* How much TCR does a T cell need?[J]. *Immunity*, 2001, 15(1): 71-82.
- [49] Miller A M, Bahmanof M, Zehn D, *et al.* Leveraging TCR affinity in adoptive immunotherapy against shared tumor/self-antigens[J]. *Cancer Immun Res*, 2019, 7(1): 40-49.
- [50] Presotto D, Erdes E, Duong M N, *et al.* Fine-tuning of optimal TCR signaling in tumor-redirection CD8 T cells by distinct TCR affinity-mediated mechanisms[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1564[2021-05-31]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.01564/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01564.
- [51] Zhong S, Malecek K, Johnson L A, *et al.* T-cell receptor affinity and avidity defines antitumor response and autoimmunity in T-cell immunotherapy[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2013, 110(17): 6973-6978.
- [52] Martinez R J, Evavold B D. Lower affinity T cells are critical components and active participants of the immune response[J/OL]. *Front Immunol*, 2015, 6: 468[2021-05-31]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00468/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00468.
- [53] Zehn D, Lee S Y, Bevan M J. Complete but curtailed T-cell response to very low-affinity antigen[J]. *Nature*, 2009, 458(7235): 211-214.
- [54] Garrido F, Aptsiauri N, Doorduyn E M, *et al.* The urgent need to recover MHC class I in cancers for effective immunotherapy[J/OL]. *Curr Opin Immunol*, 2016, 39: 44-51[2021-05-31]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26796069/>. DOI: 10.1016/j.coi.2015.12.007.
- [55] Garrido F, Cabrera T, Aptsiauri N. "Hard" and "soft" lesions underlying the HLA class I alterations in cancer cells: implications for immunotherapy[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(2): 249-256.
- [56] Lim W A, June C H. The principles of engineering immune cells to treat cancer[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 724-740.

- [57] Jameson S C, Masopust D. Understanding subset diversity in T cell memory[J]. *Immunity*, 2018, 48(2): 214-226.
- [58] Gattinoni L, Klebanoff C A, Restifo N P. Paths to stemness: building the ultimate antitumor T cell[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(10): 671-684.
- [59] Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties[J]. *Nat Med*, 2011, 17(10): 1290-1297.
- [60] Xu Y, Zhang M, Ramos C A, et al. Closely related T-memory stem cells correlate with *in vivo* expansion of CAR-CD19-T cells and are preserved by IL-7 and IL-15[J]. *Blood*, 2014, 123(24): 3750-3759.
- [61] Corgnac S, Boutet M, Kfoury M, et al. The emerging role of CD8<sup>+</sup> tissue resident memory T (TRM) cells in antitumor immunity: a unique functional contribution of the CD103 integrin[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1904[2021-05-31]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01904/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01904.
- [62] Chapuis A G, Egan D N, Bar M, et al. T cell receptor gene therapy targeting WT1 prevents acute myeloid leukemia relapse post-transplant[J]. *Nat Med*, 2019, 25(7): 1064-1072.
- [63] Rapoport A P, Stadtmauer E A, Binder-Scholl G K, et al. NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma[J]. *Nat Med*, 2015, 21(8): 914-921.
- [64] Morgan R A, Chinnasamy N, Abate-Daga D, et al. Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy[J]. *J Immunother*, 2013, 36(2): 133-151.
- [65] Rongvaux A, Willinger T, Martinek J, et al. Development and function of human innate immune cells in a humanized mouse model[J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(4): 364-372.
- [66] Pillai S P S, Uthamanthil R K. Chapter 1 - PDX Models: history and development[M/OL]. *New York: Academic Press*, 2017: 1-12[2021-05-31]. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804010-2.00001-1>.
- [67] Stauss H J, Morris E C. Immunotherapy with genemodified T cells: limiting side effects provides new challenges[J]. *Gene Ther*, 2013, 20(11): 1029-1032.
- [68] Bendle G M, Linnemann C, Hooijkaas A I, et al. Lethal graft-versus-host disease in mouse models of T cell receptor gene therapy[J]. *Nat Med*, 2010, 16(5): 565-570.
- [69] Greco R, Oliveira G, Stanghellini M T, et al. Improving the safety of cell therapy with the TK-suicide gene[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 95[2021-05-31]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2015.00095/full>. DOI: 10.3389/fphar.2015.00095.
- [70] Lupo-Stanghellini M T, Provasi E, Bondanza A, et al. Clinical impact of suicide gene therapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Hum Gene Ther*, 2010, 21(3): 241-250.
- [71] Straathof K C, Pulè M A, Yotnda P, et al. An inducible caspase 9 safety switch for T-cell therapy[J]. *Blood*, 2005, 105(11): 4247-4254.
- [72] Liu L, Sommermeyer D, Cabanov A, et al. Inclusion of Strep-tag II in design of antigen receptors for T-cell immunotherapy[J]. *Nat Biotechnol*, 2016, 34(4): 430-434.
- [73] Docta R Y, Ferronha T, Sanderson J P, et al. Tuning T-cell receptor affinity to optimize clinical risk-benefit when targeting alpha-fetoprotein-positive liver cancer[J]. *Hepatology*, 2019, 69(5): 2061-2075.
- [74] Bunse M, Bendle G M, Linnemann C, et al. RNAi mediated TCR knockdown prevents autoimmunity in mice caused by mixed TCR dimers following TCR gene transfer[J]. *Mol Ther*, 2014, 22(11): 1983-1991.
- [75] Osborn M J, Webber B R, Knipping F, et al. Evaluation of TCR gene editing achieved by TALENs, CRISPR/Cas9, and mega TAL nucleases[J]. *Mol Ther*, 2016, 24(3): 570-581.



**【专家介绍】王崑鹏**: 上海科技大学生命科学与技术学院教授、博士生导师。2003年毕业于南京大学匡亚明学院, 获理学学士学位; 2004年进入圣裘德儿童研究医院/田纳西健康医学中心攻读博士研究生学位; 2009—2015年, 加州大学旧金山分校博士后。2015年被上海科技大学聘为研究员、博士生导师。2015年入选“国家青年千人计划”, 2018年获得“中科院分子细胞科学卓越创新中心青年骨干”称号。

王崑鹏教授长期聚焦于“T 细胞信号转导与工程化”的研究, 2018年利用 CRISPR 全基因组遗传筛选, 系统地研究了 T 细胞激活的分子机制, 绘制了人类 T 细胞功能的调控图谱。该工作是世界上首次报道的基于 T 细胞功能调控的全基因组 CRISPR 筛选; 2020年通过研究 CAR 受体蛋白在 CAR-T 中运输降解的调控机制, 设计了一种新型的可循环 CAR, 显著地提高了 CAR-T 的体内持续能力和抗肿瘤效果, 为防止 CAR-T 治疗后肿瘤的复发提供了新策略。可循环 CAR-T 技术已于 2020 年底成功完成技术转让, 预计于 2021 年开展可循环 CAR-T 相关的临床试验。

作为课题组负责人正在主持 1 项科技部国家重点研发计划项目, 1 项国家自然科学基金面上项目, 1 项罗氏制药合作项目。目前已在 *Science*, *Cell*, *Immunity*, *Nature Method*, *PNAS*, *EMBO* 等国际期刊上发表论文 25 篇, 其中第一作者文章 5 篇, 共同通讯作者文章 5 篇, 申请专利 4 项。