

T 细胞受体基因工程 T 细胞治疗的现状与未来

王丹阳¹, 熊昕昕², 刘海平³, 周鹏辉^{1*}

(1. 华南肿瘤学国家重点实验室 中山大学肿瘤防治中心, 广东 广州 510060; 2. 广东省人民医院 广东医学科学院, 广东 广州 510055; 3. 广州泛恩生物科技有限公司, 广东 广州 510535)

[摘要] 免疫治疗为肿瘤的治疗带来了新的契机和希望, 其中免疫检查点抑制剂、治疗性抗体、肿瘤疫苗、免疫调节剂、过继细胞治疗等显著改善了肿瘤患者的预后, 部分晚期肿瘤患者获得了长期生存。T 细胞受体基因工程 T 细胞 (T cell receptor-engineered T cell, TCR-T) 治疗是将识别肿瘤抗原的 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 导入到患者的外周 T 细胞中, 制备能够特异性识别肿瘤抗原的 T 细胞, 然后将这些基因工程 T 细胞回输患者的治疗方法。该疗法采用天然的 TCR 信号, 具有更高的治疗潜力和更低的毒性或副作用, 并且 TCR 能够识别更多的肿瘤抗原, 因此具有广泛的应用前景。目前, 多项 TCR-T 治疗的临床研究正在开展, 现有结果表明 TCR-T 具有较好的治疗效果, 但也存在副作用等问题亟需解决。综述 TCR-T 治疗的临床研究进展、目前面临的挑战以及未来发展的方向。

[关键词] T 细胞受体基因工程 T 细胞; 肿瘤抗原; 肿瘤免疫治疗

[中图分类号] Q789; R730.51 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2021) 08-0608-08

Current and Future Development of T Cell Receptor-Engineered T Cell Therapy

WANG Danyang¹, XIONG Xinxin², LIU Haiping³, ZHOU Penghui¹

(1. State Key Laboratory of Oncology in South China, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China; 2. Guangdong Provincial People's Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510055, China; 3. Guangzhou FineImmu Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510535, China)

[Abstract] Immunotherapy has brought us new opportunities and hopes in cancer treatment, including immune checkpoint inhibitors, therapeutic antibodies, cancer vaccines, immune modulators and adoptive cell therapies, which have significantly improved prognosis of tumor patients and long-term survival of some advanced malignant tumor patients. T cell receptor-engineered T cell (TCR-T) therapy is a type of therapy that transforms T cell receptor (TCR)-recognizing tumor antigens into the patient's peripheral T cells to produce T cells which can specifically recognize tumor antigens, with such genetically engineered T cells being then injected back into the patient. Due to the natural TCR signaling, better therapeutic efficacy, lower toxic or side effects and more options of targeting antigens, TCR-T therapy is believed to have a wide range of application. At present, a number of clinical studies on TCR-T therapy are underway, and the existing results show that TCR-T has a good therapeutic effect, though some problems such as side effects still remain to be addressed. This review focuses on the clinical research progress, current challenges and future development of TCR-T therapy.

[Key words] T cell receptor-engineered T cell; tumor antigen; tumor immunotherapy

根据 GLOBOCAN 2020 最新数据, 2020 年全球新增癌症病例达 1 930 万, 并且有将近 1 000 万

人死于癌症^[1]。手术、传统化疗、放射治疗等传统治疗方法在癌症治疗中一直起着主导作用, 然而这些方法的治疗效果较为局限, 尤其是晚期患者很难从这些治疗方法中长期获益。近年来以基因修饰 T 细胞为中心的过继细胞治疗 (adoptive cell therapy, ACT), 包括嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T cell, CAR-T) 和 T 细胞受体基因工程 T 细胞 (T cell receptor-engineered T cell, TCR-T) 疗法^[2], 引起全世界广泛的关注, 各种研究及临床试验数量呈指数级增长。其中, CAR-T 疗法在血液肿瘤中取得了卓越的疗效^[3-4], 但是部

接受日期: 2021-08-02

项目资助: 国家重点研究发展计划 (No. 201610516); 国家自然科学基金 (No. 81802853, No. 81773052, No. 81572806); 中国博士后科学基金资助项目 (No. 2018M633237); 广东省科技计划项目 (No. 2016A020215086, No. 2017A030308007); 广东省创新创业研究团队项目 (No. 2016ZT06S638); 广东省医学科研基金项目 (No. 2016111214046444)

*** 通信作者:** 周鹏辉, 教授;

研究方向: 肿瘤免疫治疗;

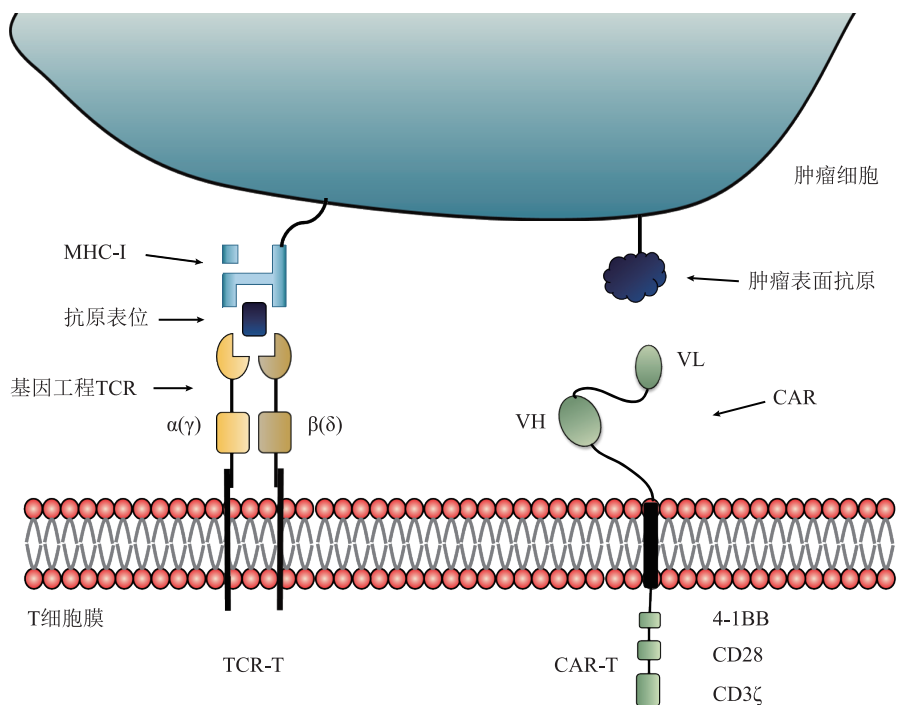
Tel: 020-39336272; **E-mail:** zhoup@sysucc.org.cn

分研究认为其在实体肿瘤上的治疗效果并不令人满意^[5]。TCR-T 治疗在实体肿瘤的治疗中具有非常大的发展潜力, 本文阐述 TCR-T 治疗的优势、目前的研究现状以及现存的问题和挑战, 并将讨论未来 TCR-T 治疗的发展方向, 以期获得更好的治疗效果和更低的毒性或副作用, 为实体肿瘤患者带来更高的获益。

1 嵌合抗原受体 T 细胞与 T 细胞受体基因工程 T 细胞

T 细胞在癌症患者的适应性免疫应答中发挥着重要的作用, 它通过 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 识别特异性肽表位与主要组织相容性复合

体 (major histocompatibility complex, MHC) 形成的复合物而被激活, 这些肽表位主要来源于肿瘤细胞表达的内源性蛋白^[6]。CAR-T 是人工制造的可表达靶向肿瘤的嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) 的 T 细胞, CAR 是由单克隆抗体 (monoclonal antibody, mAb) 的单链可变片段 (single chain variable fragment, scFv) 与 CD3 ζ 链和 1 或 2 个共刺激信号基因融合而成的抗原受体^[7]。TCR-T 则是指将具有肿瘤抗原特异性的 TCR 通过基因工程技术导入到 T 细胞中, 使 T 细胞获得识别和杀伤肿瘤细胞的功能^[8]。CAR-T 与 TCR-T 结构如图 1 所示。尽管 CAR-T 治疗对血液系统恶性肿瘤显示出良好的效果, 但对实体肿瘤的效果并不令人满意^[9]。



TCR-T: T 细胞受体基因工程 T 细胞; CAR-T: 嵌合抗原受体 T 细胞; MHC-I: 主要组织相容性复合体 I; VH: 重链可变区, VL: 轻链可变区, VH 和 VL 组成了单链可变片段 (scFv); 4-1BB (CD137), CD28 均为共刺激分子; CD3 ζ : CD3 分子的 ζ 链; α (γ) 和 β (δ) 为 TCR 的 2 条链

图 1 T 细胞受体基因工程 T 细胞与嵌合抗原受体 T 细胞

Figure 1 T cell receptor-engineered T cell and chimeric antigen receptor T cell

与 CAR-T 相比, TCR-T 具有多个优势, 有望成为 ACT 治疗实体瘤的新支柱。在 CAR-T 治疗中, CAR 中的 scFv 识别的抗原通常为表达于细胞膜的蛋白。然而, 膜蛋白的数量较为有限, 在肿瘤细胞中特异表达但在正常组织中不表达或低表达者过少。因此, 能够应用于实体瘤的 CAR-T 治疗靶点非常有

限。而 MHC 呈递的抗原包含了细胞内表达的所有蛋白, 无论胞内抗原、膜抗原还是分泌蛋白抗原, 均有可能与 MHC 分子结合, 从而被细胞的 TCR 识别, 因此 TCR-T 治疗具有更广的靶标范围^[10]。另外, 部分肿瘤是由致癌病毒引起, 靶向癌病毒抗原同样能够获得相应的治疗效果。而大部分病毒抗原属于

胞内蛋白, 因此 TCR-T 治疗也是病毒性肿瘤细胞治疗中的优选方案^[11]。此外, 每个 CAR 需要 1 000 余个抗原来激活, 而每个 TCR 的激活仅需 1~50 个抗原, 这使得 TCR-T 能够识别低丰度的肿瘤抗原^[12]。另有研究表明, CAR-T 主要分布在肿瘤周围以获取表面抗原, 而 TCR-T 可以穿透肿瘤, 这使得 TCR-T 在癌症治疗中更有效率^[13]。

CAR-T 治疗中出现的严重不良反应也限制了其发展, 常见的不良反应有细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS)、CAR-T 相关脑病综合征 (CAR-T related encephalopathy syndrome, CRES) 等^[14]。CRS 主要由 CAR-T 与靶细胞结合后活化产生大量细胞因子和趋化因子, 进而导致全身炎症反应所致, 主要表现为高热, 严重者可出现肺水肿、低血压、多器官衰竭和循环衰竭而死亡。尽管 TCR 比 CAR 的敏感性更高, 但 TCR-T 治疗中的细胞因子释放量更少^[10, 15]。因此, 与 CAR-T 治疗相比, TCR-T 治疗发生 CRS 的风险可能更低。

2 肿瘤抗原

肿瘤免疫治疗的效果在很大程度上依赖于合适的肿瘤抗原和可特异性识别抗原的 T 细胞。从 1991 年首个人类肿瘤抗原——黑色素瘤抗原 -A1 (melanoma-associated antigen A1, MAGEA1) 被鉴定以来^[16], 到目前已在各种肿瘤中发现了许多不同的肿瘤抗原, 大致可分为肿瘤相关抗原 (tumor associated antigens, TAAs)、肿瘤相关病毒抗原 (tumor associated viral antigens)、肿瘤特异性抗原 (tumor-specific antigens, TSAs)、非传统的肿瘤抗原 (unconventional tumor antigens, UCAs) 4 类^[17]。

2.1 肿瘤相关抗原

TAAs 是指在某些正常组织中低表达或在免疫豁免器官中表达, 但在肿瘤中高表达的抗原, 是正常基因的产物。如癌睾丸抗原 (cancer-testis antigen, CTA)、癌胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 和组织分化抗原 (tissue differentiation antigens, TDAs) 等。纽约-食管癌抗原-1 (New York esophageal squamous cell carcinoma 1, NY-ESO-1) 和 MAGE-A 属于在睾丸中特异表达, 而在某些肿瘤组织中异常表达的 CTA;

CEA 在胚胎发育过程中表达, 胚胎发育完成后停止表达, 但在一些肿瘤组织中出现异常高表达, 目前被认为是结直肠癌和其他一些肿瘤的重要标志物; TDAs 则通常局限于肿瘤和肿瘤来源的组织, 例如糖蛋白 100 (glycoprotein 100, gp100) 局限于皮肤、前列腺特异性抗原 (prostate specific antigen, PSA) 局限于前列腺等; 另外还有一部分在癌症中过表达的肿瘤抗原, 例如人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 和人内源性逆转录病毒 (human endogenous retroviruses, HERVs) 抗原。HERVs 是几百万年前的逆转录病毒整合到人类基因组中的残余物, 在正常组织中是表观遗传沉默的, 但可以通过 DNA 去甲基化在肿瘤中表达, 成为抗原。目前针对 TAAs 的 TCR-T 治疗已有多个临床试验在开展。

2.2 肿瘤相关病毒抗原

一部分实体瘤因病毒感染而产生, 其中病毒基因整合到细胞基因组导致具有致癌特性的病毒蛋白的表达。例如, E6 和 E7 癌蛋白的表达是由感染人类乳头状瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 的高危毒株产生, 它促进了一些头颈部癌、宫颈癌和肛门癌亚群的发生和发展^[18]。此外肝癌的发生与乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒有关, 而鼻咽癌与 EB 病毒 (Epstein-Bar virus, EBV) 感染有关。病毒抗原与正常细胞蛋白显著不同, 能够引发高亲和力的 TCR 反应, 因此病毒抗原具有较好的特异性和免疫原性, 也是 TCR-T 和 CAR-T 治疗的靶标抗原。

2.3 肿瘤特异性抗原

TSAs 是由肿瘤细胞中的基因突变产生的新抗原, 也被称为新生抗原 (neoantigens)。这类抗原在正常组织中不存在, 因此针对这类抗原的免疫治疗对正常组织的毒性很小。另外, 这些抗原也没有参与胸腺中的 T 细胞阴性选择, 因此与 TAAs 相比, 体内存在识别 TSAs 的高亲和力 TCR, 更适合进行免疫治疗。然而, TSAs 来源于基因组中的随机突变, 大部分驱动基因突变的免疫原性低, 因此针对这类抗原的 TCR-T 只适合个体化治疗。另外, TSAs 既要有一定的表达量, 还必须与 MHC 分子有效结合才能够被呈递到细胞表面成为抗原, 因此只有一部分突变的蛋

白能够成为肿瘤抗原。目前,在新生抗原的预测和鉴定上仍存在较大的问题,预测的准确率较低。同时,筛选和鉴定识别某个抗原的特异 TCR 也需要较长的时间。以上原因导致靶向特定新抗原的 TCR-T 治疗难以实现,以 TSAs 为基础的肿瘤疫苗则有多个临床试验在开展。鉴于患者的免疫系统在抗肿瘤免疫反应中会激活识别 TSAs 的 T 细胞,而这些肿瘤抗原特异性 T 细胞 (tumor antigen-specific T cells, Tas) 所携带的 TCR 可特异识别 TSAs,因此如果能够特异分离 Tas 并克隆这些细胞的 TCRs,则能够快速制备出 TSAs 特异的 TCR-T,进行个体化治疗,并且无需鉴定 TSAs 的抗原序列。

2.4 非传统的肿瘤抗原

UCAs 是指通过异常转录、翻译或翻译后修饰,从基因组的非编码区域或编码区域产生的抗原。这些过程可能不完全是肿瘤特异性的,也可以发生在正常组织中。因此,非传统的抗原可能具有 TAAs 的性质,也可能具有 TSAs 的性质。

3 T 细胞受体基因工程 T 细胞治疗的临床研究进展

目前,有大量针对不同抗原的 TCR-T 治疗进入临床试验(见表 1)。已有的临床试验结果表明,TCR-T 治疗是一种有效的肿瘤治疗方法。Johnson 等^[19]的研究显示,接受 T 细胞识别黑色素瘤抗原 1 (melanoma antigen recognized by T cells 1, MART-1) 和 gp100 TCR-T 治疗的黑色素瘤患者的客观有效率分别为 30% 和 19%,并且在细胞回输 1 个月后,所有患者的血液中仍保持了高水平的 TCR-T。Rapoport 等^[20]的研究显示,20 例晚期多发性骨髓瘤患者接受 NY-ESO-1 TCR-T 治疗,其中有 16 例(80%)观察到了治疗效果。在另外一项 NY-ESO-1 TCR-T 治疗转移性黑色素瘤和滑膜细胞肉瘤患者的临床研究中,患者出现了持久的反应^[21-22]。近期的一项 NY-ESO-1 TCR-T 治疗复发、难治性或高危多发性骨髓瘤的研究显示,细胞治疗的中位总生存期为 35.1 个月,其中 2 例患者在近 5 年后病情无进展^[23]。Tawara 等^[24]靶向 Wilms 瘤基因 1 (Wilms tumor gene 1, *WT1*) 的 TCR-T 治疗研究中,8 例患者被分为 2

个剂量组接受 TCR-T 治疗,结果均未观察到靶向正常组织的不良事件;在研究结束时,5 例患者可持续检测到 TCR-T,并且这 5 例患者中有 4 例存活超过 12 个月。这些结果均反映了 TCR-T 治疗的有效性。

4 T 细胞受体基因工程 T 细胞治疗面临的挑战

4.1 肿瘤靶向的瘤外毒性

当 TCR-T 靶向的抗原不只在肿瘤上表达时,就会产生肿瘤靶向的瘤外毒性 (on target off tumor toxicity)。Parkhust 等^[25]在转移性结直肠癌中使用了以 CEA 作为靶点的高亲和力 TCR-T 进行治疗,尽管所有接受治疗的患者血清中的 CEA 水平均下降,但有 3 例患者出现了危及生命的结肠炎和结肠出血,试验被迫终止。一项以 MAGE-A3 为靶点的 TCR-T 治疗临床试验中,9 例 MAGE-A3 高表达的患者(包括转移性黑色素瘤、滑膜肉瘤和食管癌)中 5 例患者在治疗后获得了局部反应;2 例患者由于脑组织中表达的 MAGE-A12 含有与 MAGE-A3 类似的肽序列,导致 TCR-T 在大脑中产生交叉反应,出现严重的脑灰质损伤,最后死亡^[26]。

4.2 T 细胞抗原受体 α 和 β 链的错配及外源 T 细胞抗原受体的表达降低

大多数 T 细胞表达 $\alpha\beta$ TCR,该 TCR 由肽链 α 和 β 组成,少数 T 细胞表达 $\gamma\delta$ TCR,该 TCR 由肽链 γ 和 δ 组成^[27]。目前的 TCR-T 多为 $\alpha\beta$ TCR。将外源性 TCR 引入 T 细胞后,外源性 TCR 的 α 和 β 链与内源性 TCR 的 α 和 β 链同时存在于同一 T 细胞中,会产生外源与内源 α 和 β 链之间的错配^[28]。对接受 TCR-T 输注小鼠的研究表明,这种错配出现的新型 TCR 可能会导致严重的移植物抗宿主病 (graft versus host disease, GVHD)^[29]。此外,外源 TCR 必须与内源 TCR 以及错配的 TCR 竞争在细胞表面的表达,包括与 CD3 分子的竞争结合,这可能导致外源 TCR 在膜表面的表达水平降低,无法形成有效的 T 细胞激活,降低肿瘤杀伤功能^[30]。因此,必须采取措施防止 TCR 的错配。

4.3 主要组织相容性抗原复合体限制性

由于每个 TCR 均有其对应的 MHC 类型,导致患者既要表达靶向抗原,又要表达相应的 MHC

分子, 才能进行治疗。这使得适合 TCR-T 治疗的患者数量大大减少。人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 是人类的 MHC 表达产物,

其中 HLA-A*0201 亚型是白种人中的高频 HLA 分子^[31], 现有的 TCR-T 临床试验大多数与此亚型相关, 而针对其他 HLA 亚型的 TCR-T 治疗很少。

表 1 T 细胞受体基因工程 T 细胞治疗临床试验

Table 1 Clinical trials of T cell receptor-engineered T cell therapy

靶向抗原	NCT 编码	肿瘤类型	入组患者数量
NY-ESO-1	NCT03691376	卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌	15
	NCT03029273	非小细胞肺癌	20
	NCT02650986	成人实体瘤	24
	NCT03462316	骨肉瘤、软组织肉瘤	20
	NCT03941626	食道癌、肝癌、胶质瘤、胃癌	50
	NCT03638206	B 细胞急性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、急性髓系白血病等	73
MAGE	NCT03139370	实体瘤	75
	NCT03247309	头颈部鳞状细胞癌、非小细胞肺癌等实体瘤	16
	NCT03441100	肝细胞癌等实体瘤	16
	NCT04639245	乳腺癌、非小细胞肺癌、转移性实体瘤等	18
	NCT04729543	黑色素瘤、葡萄膜黑色素瘤、头颈部肿瘤	20
TSA	NCT03891706	实体瘤	30
EGFRvIII	NCT03941626	食道癌、肝癌、胶质瘤、胃癌	50
	NCT03638206	B 细胞急性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、急性髓系白血病等	73
DR5	NCT03941626	食道癌、肝癌、胶质瘤、胃癌	50
	NCT03638206	B 细胞急性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、急性髓系白血病等	73
MSLN	NCT03941626	食道癌、肝癌、胶质瘤、胃癌	50
	NCT03638206	B 细胞急性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、急性髓系白血病等	73
	NCT04809766	胰腺癌	15
PRAME	NCT03503968	髓系和淋巴系肿瘤	92
	NCT03686124	实体瘤	16
HA-1	NCT03326921	白血病	24
	NCT04464889	白血病	29
C-met	NCT03638206	B 细胞急性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、急性髓系白血病等	73
WT-1	NCT02770820	急性髓系白血病 (非 M3 型)	9
CD40	NCT04520711	恶性上皮肿瘤	24
HBV	NCT02686372	肝细胞肝癌	10
	NCT02719782	复发性肝癌	10
	NCT04745403	肝细胞肝癌	5
HPV16	NCT03578406	宫颈癌、头颈部鳞状细胞癌	20
	NCT02858310	宫颈上皮内瘤变、原位癌等	180
	NCT03912831	HPV16 ⁺ 肿瘤	75
EBV	NCT04139057	头颈部鳞状细胞癌	9
	NCT03925896	鼻咽癌	27
	NCT04509726	鼻咽癌	20
	NCT03648697	鼻咽癌	20
MCPyV	NCT03747484	肝细胞肝癌	16

NY-ESO-1: 纽约-食管癌抗原 -1; MAGE: 黑色素瘤抗原; TSA: 肿瘤特异性抗原; EGFRv III: 表皮生长因子受体变体 III; DR5: 死亡受体 5; MSLN: 间皮素; PRAME: 黑色素瘤优先表达抗原; HA-1: 组织相容性抗原-1; C-met: 间质表皮转化因子; WT1: Wilms 瘤基因 1; HBV: 乙型肝炎病毒; HPV16: 人乳头瘤病毒 16; EBV: EB 病毒; MCPyV: 梅克尔多元瘤细胞病毒

4.4 肿瘤微环境对 T 细胞受体基因工程 T 细胞的抑制

实体瘤微环境通过多种复杂的机制抑制 T 细胞介导的抗肿瘤免疫反应, 包括减少 T 细胞的浸润、诱导 T 细胞耗竭等。TCR-T 同样面临相同的问题。通过静脉回输的 TCR-T 需要高效

进入肿瘤组织才能够产生较强的抗肿瘤免疫反应, 从而获得治疗效果。研究显示, 进入肿瘤的 TCR-T 长期暴露于肿瘤抗原刺激, 同样会发生 T 细胞耗竭, 导致 TCR-T 功能失调, 降低治疗效果^[32]。

4.5 T 细胞受体基因工程 T 细胞的制备

晚期肿瘤患者的疾病进展迅速, 过长的 TCR-T 制备流程会导致患者无法及时获得治疗, 降低治疗效果。另外, 晚期肿瘤患者的外周免疫细胞功能状态较差, 影响 TCR-T 制备的成功率。目前, 在较短时间内制备出高质量的 TCR-T 是一个挑战^[33]。

5 T 细胞受体基因工程 T 细胞治疗的未来

5.1 靶向肿瘤特异性抗原的 T 细胞受体基因工程 T 细胞治疗

由于 TSAs 来自肿瘤细胞中的随机突变, 无法提前制备好相应的 TCR-T, 因此目前 TCR-T 治疗均是靶向 TAAs^[34]。但是 TAAs 的数量非常有限, 并且无法克服 TAAs 在正常组织中表达所引起的毒性和副作用。由于 TSAs 具有较高的免疫原性, 且在正常组织中表达缺乏, 因此靶向 TSAs 在疗效和安全性上均具有显著的优势。传统的 TCR-T 的研制流程通常是在明确抗原序列后, 通过筛选获得特异识别抗原的 TCR, 并明确对应的 MHC 亚型再应用于治疗。整个过程耗时长, 效率低, 不适合 TSAs 这类个体化的抗原。然而, 患者的抗肿瘤免疫反应会激活自身体内识别 TSAs 的 T 细胞, 例如既往已经从肿瘤患者中鉴定了识别 TP53 突变和 KRAS G12V 突变的 T 细胞和 TCR^[35-36]。因此, 可以从患者自身的肿瘤抗原特异 T 细胞中快速获得特异识别 TSAs 的 TCR, 用于制备个体化的 TCR-T 进行治疗。笔者团队通过鉴定肿瘤抗原特异 T 细胞的分子标志物, 实现了从患者的肿瘤组织中准确分离肿瘤抗原特异 T 细胞, 并快速克隆其 TCR, 建立了个体化 TCR-T 治疗的全套技术平台, 并开始了 I 期临床研究 (NCT03891706)。

5.2 避免 T 细胞抗原受体的错配

Morton 等^[37]通过规律成簇的间隔短回文重复 (clustered regularly interspaced short palindromic repeat, CRISPR) /CRISPR 相关核酸酶 9 (CRISPR-associated nuclease 9, Cas9) 编辑 TRAC 和 TRBC 基因位点, 实现了内源性 TCR 的 α 和 β 链的基因敲除, 从而增加了外源 TCR 的表达和功能, 并在多发性骨髓瘤的临床前模型中证实, 增加外源 TCR 的表达可

以增强 TCR-T 对目标抗原的识别, 延长对肿瘤生长的抑制。另有研究显示, 将 $\alpha\beta$ TCR 导入到 $\gamma\delta$ T 细胞中能够显著减少 TCR 的配对错误^[38]。而将 $\gamma\delta$ TCR 转导到 $\alpha\beta$ T 细胞同样不会出现 2 种 TCR 之间的错配。He 等^[39]制作了表达 TCR $\gamma 4\delta 1$ 的 $\alpha\beta$ T 细胞, 发现这类 T 细胞不表达混合的 TCR 二聚体, 也不结合或杀伤正常细胞, 并在人源肝癌肿瘤细胞 HepG2 裸鼠模型中显著抑制了肿瘤生长。

5.3 通用型 T 细胞受体基因工程 T 细胞

通过敲除 HLA 分子, 降低宿主免疫系统的排斥, 敲除异体 T 细胞的内源 TCR 避免对宿主组织的免疫攻击, 可以制备出通用型的 T 细胞用于 TCR-T 治疗, 这不仅可以提高产品的一致性, 缩短制备时间, 还能够解决晚期患者自体 T 细胞质量不足的缺点, 是未来 T 细胞治疗的重要发展方向^[40]。

5.4 提高 T 细胞受体基因工程 T 细胞的肿瘤浸润效率

在实体瘤中产生疗效的前提是有足够的 TCR-T 进入到肿瘤组织中发挥作用。而肿瘤为了逃逸免疫攻击, 其内部环境包括血管结构与状态并不适合 TCR-T 的浸润, 如帮助效应 T 细胞迁移的趋化因子和黏附分子等的表达水平低, 从而降低了 TCR-T 进入肿瘤组织的效率^[41]。在 CAR-T 中, 表达 CXCR2 等趋化因子受体可以改善 T 细胞向肿瘤组织的转运迁移^[42-43], 类似的方法也可以应用到 TCR-T 中。

5.5 抵抗肿瘤微环境抑制

肿瘤微环境通过多种复杂机制抑制 T 细胞功能。通过干预 T 细胞内部的抑制信号通路, 分泌因子改善肿瘤微环境等方式, 能够有效提高 TCR-T 的治疗效果。在 T 细胞中直接敲除抑制性受体如程序性死亡受体-1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 的基因等, 可降低 T 细胞在肿瘤微环境中的耗竭^[44]。另外, 临床前研究结果显示, 在抗 PD-1 抗体存在的情况下, HER2 CAR-T 对肿瘤的生长抑制有显著改善, 并且该治疗效果与 PD-1 阻断后 HER2 CAR-T 功能增加相关^[45]。这或可为 TCR-T 与免疫检查点抑制剂的联用提供思路和佐证, 当然, 疗效和副作用也需要有更多的临床前研究和临床试验进一步探讨。

综上所述, TCR-T 治疗目前处于一个早期并快速发展的阶段, 其已在临床中表现出较好的治疗效

果, 是肿瘤免疫治疗领域的重要发展方向之一。未来随着相关技术的发展和瓶颈的突破, 以及个体化

TCR-T 治疗技术的建立, TCR-T 治疗将成为肿瘤治疗的重要手段。

[参考文献]

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] Scherer L D, Brenner M K, Mamonkin M. Chimeric antigen receptors for T-cell malignancies[J/OL]. *Front Oncol*, 2019, 9:126[2021-06-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6411696/>. DOI: 10.3389/fonc.2019.00126.
- [3] Chow V A, Shadman M, Gopal A K. Translating anti-CD19 CAR T-cell therapy into clinical practice for relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Blood*, 2018, 132(8): 777–781.
- [4] Abramson J S. Anti-CD19 CAR T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma[J]. *Transfus Med Rev*, 2020, 34(1): 29–33.
- [5] June C H, O'Connor R S, Kawalekar O U, *et al.* CAR T cell immunotherapy for human cancer[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1361–1365.
- [6] Ping Y, Liu C, Zhang Y. T-cell receptor-engineered T cells for cancer treatment: current status and future directions[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(3): 254–266.
- [7] Sadelain M, Rivière I, Riddell S. Therapeutic T cell engineering[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 423–431.
- [8] Hayes C. Cellular immunotherapies for cancer[J]. *Ir J Med Sci*, 2021, 190(1): 41–57.
- [9] Fucà G, Reppel L, Landoni E, *et al.* Enhancing chimeric antigen receptor T-cell efficacy in solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(11): 2444–2451.
- [10] Xu Y, Yang Z, Horan L H, *et al.* A novel antibody-TCR (AbTCR) platform combines Fab-based antigen recognition with gamma/delta-TCR signaling to facilitate T-cell cytotoxicity with low cytokine release[J/OL]. *Cell Discov*, 2018, 4: 62[2021-06-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6242878/>. DOI: 10.1038/s41421-018-0066-6.
- [11] Garber K. Driving T-cell immunotherapy to solid tumors[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(3): 215–219.
- [12] Zhao L, Cao Y J. Engineered T cell therapy for cancer in the clinic[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2250[2021-06-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6798078/>. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02250.
- [13] Segaliny A I, Li G, Kong L, *et al.* Functional TCR T cell screening using single-cell droplet microfluidics[J]. *Lab Chip*, 2018, 18(24): 3733–3749.
- [14] Neelapu S S, Tummala S, Kebriaei P, *et al.* Chimeric antigen receptor T-cell therapy—assessment and management of toxicities[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 47–62.
- [15] Harris D T, Hager M V, Smith S N, *et al.* Comparison of T cell activities mediated by human TCRs and CARs That use the same recognition domains[J]. *J Immunol*, 2018, 200(3): 1088–1100.
- [16] Van den Eynde B, Lethé B, Van Pel A, *et al.* The gene coding for a major tumor rejection antigen of tumor P815 is identical to the normal gene of syngeneic DBA/2 mice[J]. *J Exp Med*, 1991, 173(6): 1373–1384.
- [17] Leko V, Rosenberg S A. Identifying and targeting human tumor antigens for T cell-based immunotherapy of solid tumors[J]. *Cancer Cell*, 2020, 38(4): 454–472.
- [18] Moody C A, Laimins L A. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(8): 550–560.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] Robbins P F, Kassim S H, Tran T L, *et al.* A pilot trial using lymphocytes genetically engineered with an NY-ESO-1-reactive T-cell receptor: long-term follow-up and correlates with response[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(5): 1019–1027.
- [23] Stadtmauer E A, Faight T H, Lowther D E, *et al.* Long-term safety and activity of NY-ESO-1 SPEAR T cells after autologous stem cell transplant for myeloma[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(13): 2022–2034.
- [24] Tawara I, Kageyama S, Miyahara Y, *et al.* Safety and persistence of WT1-specific T-cell receptor gene-transduced lymphocytes in patients with AML and MDS[J]. *Blood*, 2017, 130(18): 1985–1994.
- [25] 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.

- [26] 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.
- [27] Kuhns M S, Davis M M, Garcia K C. Deconstructing the form and function of the TCR/CD3 complex[J]. *Immunity*, 2006, 24(2): 133-139.
- [28] van Loenen M M, de Boer R, Amir A L, *et al.* Mixed T cell receptor dimers harbor potentially harmful neoreactivity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(24): 10972-10977.
- [29] Bendle G M, Haanen J B, Schumacher T N. Preclinical development of T cell receptor gene therapy[J]. *Curr Opin Immunol*, 2009; 21(2): 209-214.
- [30] Heemskerck M H, Hagedoorn R S, van der Hoorn M A, *et al.* Efficiency of T-cell receptor expression in dual-specific T cells is controlled by the intrinsic qualities of the TCR chains within the TCR-CD3 complex[J]. *Blood*, 2007, 109(1): 235-243.
- [31] Ellis J M, Henson V, Slack R, *et al.* Frequencies of HLA-A2 alleles in five U.S. population groups. Predominance of A*02011 and identification of HLA-A*0231[J]. *Hum Immunol*, 2000, 61(3): 334-340.
- [32] Thommen D S, Schumacher T N. T cell dysfunction in cancer[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 547-562.
- [33] Saudemont A, Jespers L, Clay T. Current status of gene engineering cell therapeutics[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 153[2021-06-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5807372/>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00153.
- [34] Immatics US, Inc.. Phase I adoptive cellular therapy trial with endogenous CD8⁺ T Cells (ACTolog[®] IMA101) alone or in combination with atezolizumab in patients with relapsed and/or refractory solid cancers[EB/OL]. (2020-06-07)[2021-06-04]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02876510>.
- [35] Deniger D C, Pasetto A, Robbins P F, *et al.* T-cell responses to TP53 "hotspot" mutations and unique neoantigens expressed by human ovarian cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(22): 5562-5573.
- [36] Veatch J R, Jesernig B L, Kargl J, *et al.* Endogenous CD4⁺ T cells recognize neoantigens in lung cancer patients, including recurrent oncogenic KRAS and ERBB2 (Her2) driver mutations[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(6): 910-922.
- [37] Morton L T, Reijmers R M, Wouters A K, *et al.* Simultaneous deletion of endogenous TCR α for TCR gene therapy creates an improved and safe cellular therapeutic[J]. *Mol Ther*, 2020, 28(1): 64-74.
- [38] van der Veken L T, Hagedoorn R S, van Loenen M M, *et al.* $\alpha\beta$ T-cell receptor engineered $\gamma\delta$ T cells mediate effective antileukemic reactivity[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(6): 3331-3337.
- [39] He K, You H, Li Y, *et al.* TCR α 4 β 1-engineered $\alpha\beta$ T cells exhibit effective antitumor activity[J/OL]. *Mol Med*, 2016, 22: 519-529[2021-06-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5082300/>. DOI: 10.2119/molmed.2016.00023.
- [40] Dwarshuis N J, Parratt K, Santiago-Miranda A, *et al.* Cells as advanced therapeutics: State-of-the-art, challenges, and opportunities in large scale biomanufacturing of high-quality cells for adoptive immunotherapies[J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 114: 222-239[2021-06-04]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X17300893?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.addr.2017.06.005.
- [41] Slaney C Y, Kershaw M H, Darcy P K. Trafficking of T cells into tumors[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(24): 7168-7174.
- [42] Idorn M, Skadborg S K, Kellermann L, *et al.* Chemokine receptor engineering of T cells with CXCR2 improves homing towards subcutaneous human melanomas in xenograft mouse model[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(8): e1450715[2021-06-04]. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1450715>.
- [43] Moon E K, Carpenito C, Sun J, *et al.* Expression of a functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human T cells expressing a mesothelin-specific chimeric antibody receptor[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(14): 4719-4730.
- [44] Stadtmauer E A, Fraietta J A, Davis M M, *et al.* CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer[J/OL]. *Science*, 2020, 367(6481): eaba7365[2021-06-04]. https://www.science.org/doi/10.1126/science.aba7365?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori%3Arid%3Aacrossref.org&rft_dat=cr_pub++0pubmed&.
- [45] John L B, Devaud C, Duong C P, *et al.* Anti-PD-1 antibody therapy potently enhances the eradication of established tumors by gene-modified T cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(20): 5636-5646.



【专家介绍】周鹏辉：中山大学肿瘤防治中心华南肿瘤学国家重点实验室教授、博士生导师。美国密西根大学免疫学博士，于哈佛大学医学院完成博士后研究。入选“海外高层次人才引进计划”、广东省“珠江人才计划”领军人才。长期从事肿瘤免疫学与免疫治疗研究，建立新的免疫治疗方法并研发相关药物。研究成果发表于 *Nature*, *Cell*, *PNAS*, *Cell Res*, *Cancer Immunol Res* 等国际学术期刊，部分成果已实现临床转化，开展临床试验。