

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.01.001

· 述 评 ·

肿瘤过继细胞治疗——老故事新演绎

钱其军, 吴孟超(第二军医大学 东方肝胆外科医院, 上海 200438)



钱其军, 博士、研究员、博士生导师, 第二军医大学东方肝胆外科医院基因-病毒治疗实验室主任, 浙江省基因治疗中心常务副主任; 国家杰出青年基金获得者, 上海市科技领军人才及优秀学科带头人; 中国医药生物技术协会医药生物技术临床应用专业委员会常务委员, 中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会委员; 中华肿瘤杂志、中国肿瘤生物治疗杂志、癌症等杂志编委。主要从事肿瘤的基因-病毒治疗及免疫细胞过继治疗方面的研究。作为负责人承担国家杰出青年基金项目 1 项、国家自然科学基金国际合作重大项目 1 项、国家自然科学基金重点项目 1 项、国家自然科学基金海外杰出青年项目 1 项(国内负责人)、国家自然科学基金面上项目 3 项、国家 863 项目 2 项及艾滋病和病毒肝炎等重大传染病防治重点专项子项目 1 项。近年来荣获省部级奖项 5 项, 在 *Cancer Res*、*Clin Cancer Res*、*Mol Ther*、*Plos One* 等杂志发表 SCI-E 论文 40 余篇, 获授权中国发明专利 6 项、美国发明专利 1 项。E-mail: qianqj@sino-gene.cn。



吴孟超, 国际著名肝胆外科专家, 中国肝脏外科的开拓者和主要创始人之一, 中国科学院院士, 主任医师、教授、临床医学博士后流动站导师, 2005 年度国家最高科学技术奖获得者。现任第二军医大学东方肝胆外科医院院长、东方肝胆外科研究所所长, 兼任中德医学协会副理事长、全国医学专业学位教育指导委员会副主任、解放军医学科学技术委员会副主任、解放军总后勤部专家组副组长、中日消化道外科学顾问等职。擅长肝胆疾病的各种外科手术治疗, 尤其擅长肝癌、肝血管瘤等疾病的外科手术治疗。从医 50 余年来, 先后获各类医学科技成果奖项 24 项, 发表论文 220 余篇, 出版医学专著 18 部。1996 年 1 月被中央军委授予“模范医学专家”荣誉称号。先后获得何梁何利医学基金奖、全国百名优秀医生奖、全国“侨界十杰”荣誉称号、全军科技重大贡献奖等荣誉。E-mail: mcwu@public.sta.net.cn。

[摘要] 肿瘤过继细胞治疗(adoptive cell therapy, ACT)较早被提出并一度盛行,但长期以来其疗效不佳,逐渐淡出人们视野。近年来,肿瘤 ACT 取得长足进步,利用 T 细胞过继免疫治疗黑色素瘤获得令人鼓舞的成功;利用细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine induced killer cell, CIK)治疗癌症也在我国兴起,并取得可喜成绩。在肿瘤 ACT 领域,仍面临选择什么样的效应细胞、如何高效诱导筛选 T 细胞克隆、是否采用 T 细胞 TCR 转基因技术、如何通过武装化 T 细胞提高疗效、如何评判肿瘤 ACT 疗效等方面的问题。

[关键词] 肿瘤;过继细胞治疗;T 细胞;细胞因子诱导的杀伤细胞

[中图分类号] R730.51 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2011)01-0001-06

Adoptive cell therapy of cancer – An old story with a new twist

QIAN Qi-jun, WU Meng-chao (Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

[Abstract] Adoptive cell therapy (ACT) of cancer has long been proposed, but was gradually forgotten due to its disappointing efficacy. In recent years, great improvement has been made in cancer ACT. ACT with adoptive T cells for immunotherapy of melanoma has achieved impressive outcomes. And CIK (cytokine induced killer cells) has been widely used in clinical treatment of cancers in China, and satisfactory results have been obtained. However, several problems remain to be solved: what kind of cells are suitable for adoptive transfer? How to efficiently induce and screen T cell clones?

[基金项目] 国家杰出青年科学基金资助(No. 30925037); 艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病的防治科技重大专项基金资助项目(No. 2008ZX10002-023)。Project supported by the National Science Foundation for Distinguished Young Scholars of China (No. 30925037), and the Major Project of Ministry of Science and Technology of China (Special Foundation for Prevention and Treatment of “AIDS and Virus Hepatitis” Major Infectious Diseases) (No. 2008ZX10002-023)

[网络出版] 2011-01-25; <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110125.1122.033.html>

Whether and how to rapidly amplify T cells through TCR transgenic strategy? How to genetically engineer T cells to improve the efficacy of ACT, and how to properly evaluate the efficacy of ACT, etc.

[Key words] neoplasms; adoptive cell therapy; T cell; cytokine induced killer cell

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(1): 1-6]

肿瘤过继细胞治疗(adoptive cell therapy, ACT) 是免疫疗法的一种,通过对自体免疫细胞进行体外激活和扩增,然后将其重新输回肿瘤患者体内,并辅以合适的生长因子,促使其在体内发挥杀伤肿瘤细胞的作用。自 1985 年 Rosenberg 等^[1]首次应用 ACT 方法治疗黑素瘤以来,肿瘤 ACT 虽有进展,但一直成效不佳。而在我国,1990 年左右曾一度兴起应用淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer cell, LAK)治疗肿瘤的热潮,但终因该方法涉及大剂量 IL-2 的使用,毒性较大,且临床疗效不明确,逐渐退出临床治疗,目前仅有少数单位继续应用。这些状况使肿瘤 ACT 陷入“骗局还是希望”的彷徨中,没有成为癌症治疗的主流方法^[2]。近年来,肿瘤 ACT 取得长足进步,Rosenberg 利用 T 细胞过继免疫治疗黑素瘤获得令人振奋的成果^[3];国内越来越多的单位开展起细胞因子诱导杀伤细胞(cytokine induced killer cell, CIK)的肿瘤治疗,并获得了可喜的治疗效果。在本文中,笔者将就肿瘤 ACT 的发展历程、发展状况与存在问题作一探讨。

1 肿瘤 ACT 的发展历程

1985 年,美国国立癌症研究所的 Rosenberg 教授首次将 LAK 细胞引入黑素瘤的治疗,利用患者自身的防疫系统来治疗癌症,开创了肿瘤 ACT 的历史^[1]。3 年后他又建立了肿瘤浸润性淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)对黑素瘤的治疗方法^[4]。在我国,1990 年左右曾兴起应用 LAK 治疗肿瘤的热潮,但该方法涉及大剂量 IL-2 的使用,毒性较大,且 LAK 细胞体外扩增能力较低,体内杀瘤活性不高,故逐渐退出临床治疗。

肿瘤 ACT 所面临的困境使其陷入“骗局还是希望”的彷徨中,甚至有质疑者认为癌细胞是患者自身的,机体怎么会把这些癌细胞看作外来入侵者呢? 2007 年,来自马里兰州的 Johns Hopkins 大学肿瘤学家 Bert Vogelstein 和其同事在 Science 杂志报道,称乳腺癌和结肠癌细胞中含有数百个基因的突变。后续研究进一步证实了这个观点:癌细胞群中确实存在基因突变,从而使肿瘤组织中出现在机体其他部位所没有的新抗原,这些新抗原会引起机体免疫反应^[5]。

新型抗体的研究成果进一步证实了上面的观

点,这种新型抗体与传统的作用于肿瘤表面抗体的机制不同,它们直接作用于 T 细胞,通过增强或延长激活 T 细胞而发挥抗癌作用。2010 年 8 月,Medarex 生物技术公司宣布了该公司研发的针对免疫应答天然抑制蛋白——细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)的抗体 ipilimumab 治疗黑素瘤的 III 期临床试验报告,接受 ipilimumab 治疗的 676 例患者平均生存时间为 10 个月,而对照组仅有 6.4 个月,有近 25% 的患者活了 2 年以上。这是国际上首次报道对四期黑素瘤患者仍有疗效的治疗方法^[3,6]。针对另一个免疫应答抑制蛋白——程序性死亡因子(PD-1)的抗体研究也取得相似的结果。临床试验表明,PD-1 抗体对将近三分之一的黑素瘤和肾癌患者有疗效,治疗后长达 3 年的时间里,有反应的患者无一例复发;虽然有很多患者体内依然存有肿瘤,但一直处于静止状态,没有继续生长^[7]。这两种抗体的临床试验表明,通过激活患者体内自身的免疫系统,能有效对抗肿瘤。制药巨头 Bristol-Myers Squibb 公司以 24 亿美元高价收购了拥有这两个抗体的 Medarex 公司。2010 年,FDA 批准了以免疫细胞树突状细胞(DC)为基础的肿瘤疫苗 Provenge 用于前列腺癌的治疗^[3,8]。

这一系列研究成果使肿瘤 ACT 重现曙光,打消了“骗局还是希望”的彷徨。2002 年,Rosenberg 教授等^[9]提出治疗前免疫耗尽预处理策略,将 ACT 治疗效率显著提升。随后他付出了艰辛的努力,逐渐使黑素瘤 ACT 慢慢走向成功^[10-12]。在最近的临床试验中^[3],93 个坚持治疗的转移性黑素瘤患者中,有 20 个患者经历了癌症痊愈的全过程,19 个患者活了 3~8 年的无癌症生活,另有 32 个患者体内的肿瘤明显变小。如此好的治疗效果在全身转移性肿瘤患者中堪称闻所未闻,揭示了肿瘤 ACT 的巨大威力。在我国,越来越多的单位开展起 CIK 的肿瘤临床治疗,也展现了可喜的治疗效果。我们有理由相信,肿瘤 ACT 即将迎来新一轮的研究高潮,未来有可能在肿瘤治疗中占据相当重要的地位。

2 肿瘤 ACT 的现状与存在问题的思考

肿瘤 ACT 包括效应细胞分选、体外扩增、体外处理、回输治疗等步骤。总的来说,效应免疫细胞的

产生主要依赖于特异性肿瘤抗原的刺激、细胞因子和共刺激分子的作用以及基因工程技术的应用等。高免疫活性、长期体内存活效应细胞的获取与高效富集是肿瘤 ACT 成功的关键。

2.1 效应细胞的选择:国内国外不同的做法

肿瘤 ACT 采用的效应细胞可分为两类,第一类包括 LAK、CIK 及自然杀伤细胞(NK),这类细胞可从外周血中分离,并经淋巴因子或细胞因子诱导刺激获得,可通过非 MHC 依赖性发挥抗肿瘤作用。LAK 由于涉及大剂量 IL-2 的使用,毒性较大,目前已很少采用。

CIK 细胞在我国肿瘤 ACT 中较为流行,在当前的技术条件下,通过采血及 2 周的体外扩增培养,很容易获得 1×10^{10} 以上的 CIK 细胞,操作相当简便,技术较为成熟稳定。国内有上百家医院开展了 CIK 的临床治疗,屡有报道其效果显著^[13-15],CIK 治疗不仅抑制了肿瘤生长也提高了肿瘤患者的生存质量。但国际上应用 CIK 的临床研究相对较少。特别值得指出的是国内有些单位仅用 $\leq 1 \times 10^9$ 的 CIK 细胞对肿瘤进行临床治疗,虽然不同的培养体系培养的 CIK 的质量并不相同,但输注相当数量 CIK 细胞对抗肿瘤疗效仍十分重要,理论上 $\leq 1 \times 10^9$ 的 CIK 细胞输注不足以产生明显抗肿瘤疗效。

另一类效应细胞为肿瘤抗原特异性 T 细胞,包括 TIL、细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL),两者均为被肿瘤抗原激活的细胞毒 T 细胞,识别自身 MHC 类分子抗原复合物,具有高度特异性杀伤性能。由于其疗效明显,在国际上临床研究较多。要获得足够量的 T 细胞,其技术体系相对较为复杂,细胞诱导培养周期较长,培养成功率相对较低。最近美国国立癌症研究所的 Rosenberg 教授做了大量改进工作,简化了培养技术及大大提高了成功率,现正尝试从患者血液中直接提取 T 细胞并基因改造,从而使这些 T 细胞能识别肿瘤抗原^[16-17]。

2.2 T 细胞克隆的诱导筛选:体外培养或体内存活的艰难抉择

在进行 T 细胞治疗时,人们总是希望通过筛选或激活以获得特异性靶向肿瘤细胞且具有高杀伤性的 T 细胞克隆种子。一种策略是先通过克隆化培养,富集多个候选克隆,通过对自体肿瘤细胞与异体肿瘤细胞杀伤活性或干扰素 γ 表达量的比较,确定最佳 T 细胞克隆,进行扩大培养。另外一种策略是将具有特定肿瘤抗原呈递能力的 DC 细胞与原始 T 细胞共培养,富集具有特定肿瘤抗原特异性的 T 细胞。

上述两种方法培养获得的 T 细胞未经任何转

基因修饰,为天然状态,安全性高。然而,从很多 T 细胞中筛选一个对于肿瘤高反应性的细胞克隆,再把这个克隆扩增至临床所需的 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ 治疗剂量细胞数,这个过程最少需要 45 d。对于肿瘤患者来说无疑是一个焦急的等待过程,有些患者可能都等不到治疗就已死亡。另一方面,该方法面临如何权衡体外培养与体内存活时间的难题:体外培养的时间长,细胞会容易变老,活力下降、干性丢失,获得多为分化终末期细胞,在体外虽能显示治疗效果,但输入患者体内后,细胞在体内存活时间较短,治疗效果将受影响^[18-19]。具有中心记忆细胞的 CCR7⁺, CD27⁺, CD28⁺, CD62L⁺ 表型的抗瘤 T 细胞会比丢失了这些标记的高度分化 T 细胞更有效^[19-21],在治疗有效患者中可以见到长期存在过继输注的 T 细胞,该细胞表型为 CD27⁺ CD28⁺^[21,22]。最近 Dudley 博士等^[23]研究表明,年轻的 TIL 细胞对肿瘤治疗效果更好。其次,T 细胞克隆到底是单克隆好还是多克隆好?肿瘤是一个异质性群体,表面抗原不一致,因此在 T 细胞筛选克隆时,如果过于强调单细胞克隆,或许疗效并不理想^[19]。再则,针对肿瘤特异性抗原(如 p53, CEA)的 T 细胞克隆也会产生毒性作用,主要由于部分细胞抗原表达的缺失以及部分非靶标的过激反应。

另外,获得能在体内长时间存活的 T 细胞克隆非常重要。Berger 博士等报道,在一个 CMV 感染的灵长目动物模型中,只有中枢记忆性 T 细胞衍生的抗原特异的 CD8 克隆在体内持续存在很长时间,并接近记忆性 T 细胞的生存时间^[24]。其他研究显示,诱导 Wnt-beta-catenin 表达可促进增殖和抗肿瘤能力增强的记忆性“干”细胞的产生,这些细胞比其他 T 细胞亚群在过继治疗中更有效。在另一项研究中,针对 EBV 的 CTL,主要是效应性 T 细胞,含有 CD4 和 CD8 阳性细胞群,能够在体内存在长达 9 年之久,持续地发挥抗 EBV 淋巴瘤的作用^[24]。

因此,针对肿瘤过继免疫治疗,T 细胞克隆的筛选所带来的利与弊值得我们关注,能否寻找到一种既能快速筛选 T 细胞克隆又能使其在体内长期存活的方法至关重要。笔者实验室与上海白泽生物技术有限公司合作开发了能产生肿瘤抗原特异性免疫反应的淋巴细胞活化技术(lymphocyte activation for antigen-specific responses, LARs)。通过建立不同肿瘤抗原的饲养细胞库,通过强化患者自身肿瘤细胞抗原及第二刺激信号,对如何高效获得针对肿瘤细胞特征的 T 细胞克隆、并快速且能保持 T 细胞干性的方法进行了探索,取得了初步成功。

2.3 T 细胞 TCR 转基因技术: 双刃剑

针对 T 细胞克隆筛选的问题, 研究者已通过利用基因转移表达高亲和力的转基因 TCR α 和 β 链或表达合成嵌合抗原受体克服了这一局限。TCR 的 α 和 β 链的 cDNAs 已从对肿瘤起反应的细胞毒性 T 细胞的 I 类 HLA 限制的 TCRs 克隆得到, 并用整合载体转移到新的 T 细胞中, 赋予受体细胞与供体 T 细胞同样的抗原特异性。这种方法适用于大量肿瘤抗原特异 T 细胞的快速生产^[19,21,24-28]。

目前许多肿瘤特异性 TCR 基因已被分离鉴定, 包括针对恶性肿瘤中过表达的正常蛋白, 例如 p53 或是癌胚抗原; 差异化抗原, 比如被 T 细胞受体-1 (MART-1) 或肿瘤特异性抗原受体 (CTA) 家族成员所识别的恶性黑色素瘤抗原等。当然, 转基因 TCR 存在一些问题: 首先, 转基因 TCR 链可能与来自患者的内生 TCR 链发生错配, 从而导致细胞表面肿瘤反应性 TCR 密度减少, 同时这种错配还可能产生移植物抗宿主病, 尽管研究者用 RNAi 干扰内源性受体基因表达或用 2A 序列稳定 α 和 β 表达比例等的方法以期实现功能型的配对; 其次, 因为 TCR 只识别 MHC 分子提呈的肽段抗原, 而不同患者的 MHC 分子不同, 所以必须分离对所有 MHC 单体型特异的 TCR, 这在实践中难以实现; 再次, TCR 结合的抗原多为蛋白肽段, 不能识别糖类与脂类抗原, 抗原范围局限性大。

嵌合抗原受体的出现, 使 T 细胞可通过非 MHC 限制性途径与肿瘤抗原发生反应。第一代嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptors, CAR) 由一个 scFv (由抗体 VL 区氨基酸序列和 VH 区序列经肽连接物连接而成) 通过铰链结构与源于 TCR 复合体或者 IgE 高亲和受体的跨膜和胞内信号结构连接构成, 表达 CAR 的 T 细胞可通过非 MHC 限制性途径与抗原反应。此外, 与常规的 TCR 只能针对蛋白抗原相比, CAR 并不局限于蛋白抗原, 还包括糖类和脂类肿瘤相关抗原, 而这些抗原不像蛋白抗原那么容易突变。然而, 表达 CAR 的 T 细胞只具有效应功能, 体内存留时间短。为此, 第二代 CAR 在第一代 CAR 的基础上, 增加了共刺激结构域, 可以接受来源于抗原提呈细胞表面的 CD28 和 CD80 的共刺激, 延长 T 细胞在体内存活时间。但是, 不依赖 MHC 的靶识别途径有其潜在的问题。抗原加工并与 MHC 结合后能够使细胞内的抗原分子提呈到细胞表面, 然而表达嵌合抗原受体的 T 细胞没有 MHC 的帮助, 仅能识别存在于肿瘤细胞表面的抗原分子, 对于肿瘤细胞内抗原分子必须由具有新肿瘤抗原分

子识别受体的 T 细胞发挥作用。

通过 TCR 或 CAR 转基因技术虽然可使肿瘤抗原特异性 T 细胞快速达到期望数量, 然而这一技术也存在一些问题。首先, 获得的 T 细胞克隆为均质细胞, 只能识别单一的肿瘤抗原。但肿瘤异质性高, 单一靶向的 T 细胞能特异杀伤一类肿瘤细胞, 不携带该抗原分子的肿瘤细胞则可被豁免。而且, 肿瘤可以通过自身的进化, 丢失被 T 细胞识别的肿瘤变异抗原, 逃逸这类 T 细胞的免疫作用。其次, 该 T 细胞克隆具有在宿主体内持续存在、大量增殖的潜力, 可能产生 T 细胞的瀑布效应, 过量激活导致对自身器官的攻击, 这是我们需要预防的。针对这个问题, 很多研究者采用 TK 自杀基因在适当的时候对那些过量的 T 细胞进行自我毁灭^[29]; 这个方法在其他肿瘤治疗的方案中已经比较成熟, 已进入 III 期临床试验。也可用可诱导的 caspase 9 (icasp 9), icasp 9 是 caspase 凋亡途径中天然存在的成分, 无免疫原性且不会在处于静止期的细胞内引发凋亡, 目前该方法已开始临床试验^[30-31]。

2.4 武装化 T 细胞: 增强 ACT 抗癌疗效的利剑

肿瘤局部区域非成熟 DC (iDC)、不成熟的骨髓来源细胞 (iMC)、调控 T 细胞 (Tregs) 的数量上升, 这类细胞对免疫起抑制作用, 保护肿瘤细胞免受 T 细胞的伤害。肿瘤细胞还可通过旁分泌作用, 使周围 TGF- β 水平显著上升, 促进肿瘤的发展进程、侵袭性以及代谢功能, 并可诱导 T 效应细胞生长阻滞, 直接抑制 T 细胞的细胞毒作用。另外, 肿瘤细胞大量分泌 IL-10 也会起抑制免疫效应。这类细胞可限制回输的 T 细胞在肿瘤病灶内发挥治疗作用, 这也是早期肿瘤 ACT 归于失败的重要原因。采用化疗药剂, 如环磷酰胺对患者进行预处理, 可有效减少肿瘤局部免疫抑制细胞的数量, 提高过继细胞治疗的效果^[3,9-12,21]。但化疗药剂毒性较大, 许多高龄或重危患者身体条件不允许。因而, 为提高肿瘤 ACT 治疗的疗效, 尽量减少化疗药剂的使用, 需赋予 T 细胞更多的抗癌机制。

目前, 采用的策略主要包括: (1) 使 T 细胞表达 IL-2、IL-7 和 IL-15 等促进免疫作用的淋巴因子, 使肿瘤局部的该类淋巴因子浓度升高, 模拟淋巴再生和动态平衡重建时的环境条件, 使肿瘤微环境适宜于 T 细胞存活并发挥作用; (2) 通过基因工程的方法, 如 RNAi 技术, 使 T 细胞表面 TGF- β 受体下调, 屏蔽肿瘤微环境中大量存在的 TGF- β 信号对其的抑制作用; (3) 使 T 细胞表达延长体内存活时间的基因, 如端粒酶、抗凋亡基因 Bcl-2 等^[32]。

目前转染 T 细胞载体多为慢病毒和逆转录病毒等整合性病毒,这类病毒随机插入 T 细胞基因组,可能会引起某些未知肿瘤基因及其他疾病基因的激活,带来了安全隐患。笔者实验室与上海白泽生物技术公司合作开展非整合病毒载体的研究。天然存在的腺病毒及腺相关病毒(AAV)载体对于 T 细胞等免疫细胞的感染能力有限,笔者通过对腺病毒纤毛蛋白及 AAV 外壳的改造,大幅提高重组腺病毒及腺相关病毒对 T 细胞的感染效率,弥补这两种病毒对 T 细胞感染效率低的缺陷;同时为解决腺病毒(Ad)表达时间较短而 AAV 表达起始较慢的问题,我们建立了 Ad/AAV 复合病毒系统来实现 T 细胞长期快速表达目的基因的目的。在目的基因方面,笔者实验室应用前期建立的全长抗体基因治疗系统,在 T 细胞及 CIK 细胞中高效表达各种抗肿瘤抗体,如 EGFR 单抗、VEGF 单抗、Her2 单抗等,利用肿瘤特异性 T 细胞或 CIK 细胞趋化肿瘤的特性,提高肿瘤局部抗体的浓度,解决了全长抗体难以进入实体瘤内部的难题。同时这种 T 细胞及 CIK 细胞既能直接杀伤肿瘤细胞又能通过抗体依赖的细胞毒作用(即 ADCC 效应)发挥抗肿瘤作用,从而能够最大限度地实现细胞及抗体协同抗肿瘤治疗^[33]。

2.5 肿瘤 ACT 疗效评判标准:新的规则

作为免疫治疗的一种,ACT 所产生的抗肿瘤活性是通过诱导肿瘤专一的免疫反应或通过改变患者的免疫进程来实现的,所产生的临床效应与传统的细胞毒药物治疗所产生的临床效应结果存在较多差异。对于细胞毒性药物来说,“临床疗效标准”认为,肿瘤生长的早期增加,或者新损伤的出现即意味着疾病恶化,也就意味药物试验失败。而在实际应用中,肿瘤 ACT 发挥疗效,但可能出现下面几种情况:(1)肿瘤的收缩;(2)持久稳定的疾病状态(有些患者有缓慢的总体肿瘤负荷的减小);(3)在总体肿瘤负荷增加后才起疗效;(4)有新的损伤出现的情况下仍有疗效。(5)出现混合反应现象,既有某些部位肿瘤消退,另一些部位没什么变化,而有的部位恶化。后面 4 种临床反应表现,按传统的评价标准都会被被认为是疾病进展(PD),将停止治疗,但实际情况是出现这些情况患者都获得了有效生存延长。

因此,世界卫生组织(WHO)的评价标准或实体瘤疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RECIST)可能无法有效合理评判由免疫治疗所产生的临床反应。为此,近期世界肿瘤疫苗协作组(Cancer Vaccine Consortium Group)与国际肿瘤生物治疗协会(International Society of Biological

Therapy of Cancer)组织大约 200 名肿瘤学家、免疫治疗学家及临床药监专家,集中讨论了他们在对肿瘤患者实施免疫治疗后的一些经验,形成了一个“免疫相关反应评价标准(immune-related response criteria, irRC)”^[34]。新 irRC 规则表明:(1)明显可测的抗肿瘤活性,免疫治疗要比细胞毒性治疗需要更久的时间;(2)免疫治疗有效反应可能会出现在传统 PD 之后;(3)中断免疫治疗在一些情况下是不合适的,除非能确证是 PD;(4)PD 被建议改为临床无显著性疗效;(5)持久疾病稳定(SD)或许表明抗肿瘤疗效。irRC 规则虽然是基于 ipilimumab 单抗的临床试验制定的,然而规则理念是来自于多个免疫治疗机构观察不同免疫制剂临床试验后所得出的一致结论,因此,irRC 规则也被认为能广泛应用于其他免疫治疗试剂。这个新的评价体系的出台可能对今后免疫治疗药物和免疫治疗技术的开发产生积极的影响,当然这仍有待药监系统的深入理解并制定相应的药物审评标准。

3 结 语

肿瘤的 ACT 治疗在经历了长期的低迷状态后逐渐重回到人们的视野中心,最近临床试验的成功以及肿瘤疫苗的上市重燃了人们对 ACT 的信心。越来越多的证据表明,ACT 具有其他治疗方式无法比拟的优越性,是治疗恶性实体肿瘤的有效手段之一,具有十分广阔和诱人的临床应用前景。理想的肿瘤 ACT,需要高效快速的 T 细胞体外筛选扩增技术,需要 T 细胞靶向多个肿瘤靶点,需要 T 细胞具有复合抗癌机制,需要 T 细胞能在体内长期存活,需要 T 细胞的体内增殖能得到有效调控。这些问题的解决,需要更多的探索及更多新技术的不断涌现。我们有理由相信,在不久的将来 ACT 将会在肿瘤治疗中获得更大的成功并真正成为肿瘤的个性化治疗手段,终将为大量肿瘤患者带来福音。

[参 考 文 献]

- [1] Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer [J]. *N Engl J Med*, 1985, 313(23): 1485-1492.
- [2] Riddell SR. Engineering antitumor immunity by T-cell adoptive immunotherapy [J]. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*, 2007, 250-256.
- [3] Couzin-Frankel J. Immune therapy steps up the attack [J]. *Science*, 2010, 330(6003): 440-443.
- [4] Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of

- patients with metastatic melanoma. A preliminary report [J]. N Engl J Med, 1988, 319(25): 1676-1680.
- [5] Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers [J]. Science, 2007, 318(5853): 1108-1113.
- [6] Hodi FS, O' Day SJ, Mc Dermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. N Engl J Med, 2010, 363(8): 711-723.
- [7] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: Safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates [J]. J Clin Oncol, 2010, 28(19): 3167-3175.
- [8] Nabhan C. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer [J]. N Engl J Med, 2010, 363(20): 1966-1967.
- [9] Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes [J]. Science, 2002, 298(5594): 850-854.
- [10] Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, et al. Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(10): 2346-2357.
- [11] Dudley ME, Yang JC, Sherry R, et al. Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: Evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(32): 5233-5239.
- [12] Hong JJ, Rosenberg SA, Dudley ME, et al. Successful treatment of melanoma brain metastases with adoptive cell therapy [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(19): 4892-4898.
- [13] Hui D, Qiang L, Jian W, et al. A randomized, controlled trial of postoperative adjuvant cytokine-induced killer cells immunotherapy after radical resection of hepatocellular carcinoma [J]. Dig Liver Dis, 2009, 41(1): 36-41.
- [14] Li H, Wang C, Yu J, et al. Dendritic cell-activated cytokine-induced killer cells enhance the anti-tumor effect of chemotherapy on non-small cell lung cancer in patients after surgery [J]. Cytotherapy, 2009, 11(8): 1076-1083.
- [15] 赵明, 吴沛宏, 曾益新, 等. 经肝动脉栓塞化疗序贯联合射频消融和细胞因子诱导的杀伤细胞治疗肝细胞癌的随机研究 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86(26): 1823-1828.
- [16] Klapper JA, Thomasian AA, Smith DM, et al. Single-pass, closed-system rapid expansion of lymphocyte cultures for adoptive cell therapy [J]. J Immunol Methods, 2009, 345(1/2): 90-99.
- [17] Yang S, Dudley ME, Rosenberg SA, et al. A simplified method for the clinical-scale generation of central memory-like CD8⁺ T cells after transduction with lentiviral vectors encoding antitumor antigen T-cell receptors [J]. J Immunother, 2010, 33(6): 648-658.
- [18] Zhou J, Shen X, Huang J, et al. Telomere length of transferred lymphocytes correlates with *in vivo* persistence and tumor regression in melanoma patients receiving cell transfer therapy [J]. J Immunol, 2005, 175(10): 7046-7052.
- [19] Yee C. Adoptive therapy using antigen-specific T-cell clones [J]. Cancer J, 2010, 16(4): 367-373.
- [20] Gattinoni L, Klebanoff CA, Palmer DC, et al. Acquisition of full effector function *in vitro* paradoxically impairs the *in vivo* antitumor efficacy of adoptively transferred CD8⁺ T cells [J]. J Clin Invest, 2005, 115(6): 1616-1626.
- [21] Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, et al. Adoptive cell transfer: A clinical path to effective cancer immunotherapy [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8(4): 299-308.
- [22] Powell DJ Jr, Dudley ME, Robbins PF, et al. Transition of late-stage effector T cells to CD27⁺ CD28⁺ tumor-reactive effector memory T cells in humans after adoptive cell transfer therapy [J]. Blood, 2005, 105(1): 241-250.
- [23] Dudley ME, Gross CA, Langan MM, et al. CD8⁺ enriched "young" tumor infiltrating lymphocytes can mediate regression of metastatic melanoma [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(24): 6122-6131.
- [24] Brenner M, Heslop HE. Adoptive T cell therapy of cancer [J]. Curr Opin Immunol, 2010, 22(2): 251-257.
- [25] Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes [J]. Science, 2006, 314(5796): 126-129.
- [26] Coccoris M, Straetemans T, Govers C, et al. T cell receptor (TCR) gene therapy to treat melanoma: Lessons from clinical and preclinical studies [J]. Expert Opin Biol Ther, 2010, 10(4): 547-562.
- [27] Davies DM, Maher J. Adoptive T-cell immunotherapy of cancer using chimeric antigen receptor-grafted T cells [J]. Arch Immunol Ther Exp, 2010, 58(2): 165-178.
- [28] Morgan RA, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive cell therapy: Genetic modification to redirect effector cell specificity [J]. Cancer J, 2010, 16(4): 336-341.
- [29] Deschamps M, Mercier-Lethondal P, Certoux JM, et al. Deletions within the HSV-TK transgene in long-lasting circulating gene-modified T cells infused with a hematopoietic graft [J]. Blood, 2007, 110(12): 3842-3852.
- [30] Straathof KC, Pulè MA, Yotnda P, et al. An inducible caspase 9 safety switch for T-cell therapy [J]. Blood, 2005, 105(11): 4247-4254.
- [31] Hoyos V, Savello B, Quintarelli C, et al. Engineering CD19-specific T lymphocytes with interleukin-15 and a suicide gene to enhance their anti-lymphoma/leukemia effects and safety [J]. Leukemia, 2010, 24(6): 1160-1170.
- [32] Charo J, Finkelstein SE, Grewal N, et al. Bcl-2 overexpression enhances tumor-specific T-cell survival [J]. Cancer Res, 2005, 65(5): 2001-2008.
- [33] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK)、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [P]. 2010-10-14.
- [34] Wolchok JD, Hoos A, O' Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: Immune-related response criteria [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(23): 7412-7420.

[收稿日期] 2011-01-10 [修回日期] 2011-01-20

[本文编辑] 韩丹