

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.01.019

NY-ESO-1 抗原的基础与临床研究进展

Current advances in basic and clinical study of NY-ESO-1

虞淦军 综述;万涛 审阅(第二军医大学免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室,上海 200433)

[摘要] NY-ESO-1 是癌-睾丸抗原家族中的重要一员,在多种肿瘤组织中广泛表达,但在正常组织中几乎不表达。目前已经发现了 20 多个抗原表位,并在多种肿瘤患者体内检测到自发性免疫反应,包括体液和细胞免疫反应,NY-ESO-1 的表达及体内自发性免疫应答被证实与肿瘤的预后和预后有重要关联。NY-ESO-1 被认为是肿瘤免疫治疗的理想靶抗原,以 NY-ESO-1 抗原为靶点的肿瘤治疗性疫苗、TCR 基因修饰的 T 细胞、CAR 修饰的 T 细胞等临床研究相继开展,展示了良好的前景。

[关键词] NY-ESO-1;表位;肿瘤疫苗;TCR;CAR;肿瘤免疫治疗

[中图分类号] R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)01-0104-08

近年来,肿瘤免疫治疗不断取得新的突破,Science 杂志在 2013 年将其评为年度十大科技进展之首^[1]。寻找和鉴定新的肿瘤特异性或相关性抗原是肿瘤免疫学研究的关键之一,随着重组 cDNA 文库血清学分析技术(serological analysis of recombinant cDNA expression libraries, SEREX)、细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T cell, CTL)克隆识别技术、生物信息学技术为基础的抗原鉴定体系的应用,大量的肿瘤特异性和相关性抗原被发现,其中癌-睾丸抗原(cancer-testis antigen, CT)被认为最具有前景的肿瘤相关抗原之一,其特点是在多种组织来源的肿瘤细胞中表达,但在正常组织中的表达仅限于睾丸和胚胎组织。由于生殖细胞不表达 HLA 分子以及血睾屏障的存在,因此针对 CT 抗原的肿瘤免疫治疗一般不会对正常组织细胞产生免疫毒性。NY-ESO-1(New York esophageal squamous cell carcinoma 1, NY-ESO-1)是 CT 抗原基因家族中的重要一员,由于其在肿瘤抗原中具有较强的免疫原性^[2],并在多种肿瘤组织(恶性黑色素瘤、肝细胞癌、卵巢癌等)中表达而在肿瘤治疗领域备受关注。因此,本文对目前国内外 NY-ESO-1 的基础和临床方面的研究进展作一综述,为进一步的研究提供参考。

1 NY-ESO-1 基因家族及其蛋白结构与表达

目前发现,NY-ESO-1 基因家族至少有 NY-ESO-1、LAGE-1 和 ESO3 三个成员,其基因序列具有一定的相似性和一致的基因组构成,且均定位于 Xq28^[3]。转录 NY-ESO-1 基因的 mRNA 一般为 700 bp 左右,最长可达 747 bp,编码区通常为 543 bp,编码的蛋白质相对分子量为 18 kD 左右,氨基酸数目

为 180 个,其 N 端有一个甘氨酸富集区,C 端含一个疏水氨基酸尾,存在潜在的跨膜区域,因此 NY-ESO-1 抗原可能是一个跨膜蛋白。Liu 等^[4]发现,用半胱氨酸取代丝氨酸(Cys-Ser)可以扰乱 NY-ESO-1 的聚合结构,导致其免疫原性的降低和 TLR-4 依赖的诱导抗体应答反应的改变,说明 NY-ESO-1 中存在二硫键并形成聚合物结构,这对于 NY-ESO-1 抗原的免疫原性具有重要影响。

LAGE-1 与 NY-ESO-1 氨基酸序列具有高度相似性,达到 84%~89%,且其 C 末端也有一个碱性疏水区;LAGE-1 在蛋白水平上与 NY-ESO-1 最大的不同是其在肿瘤细胞中存在 210 个和 180 个氨基酸组成的两种不同的剪切体。ESO3 编码的蛋白质由 143 个氨基酸组成,与 NY-ESO-1 也有一定的相似性,其 C 端的 63 个氨基酸与 NY-ESO-1、LAGE-1 高度一致,但是 ESO3 与前两者有较大差别,ESO3 表达不具有肿瘤特异性,广泛表达于人体的正常组织。鉴于此,NY-ESO-1 和 LAGE-1 应用于肿瘤免疫治疗的可能性最大,而 NY-ESO-1 由于其更强的免疫原性而得到更多研究。

NY-ESO-1 抗原首先是由 Chen YT 等^[5]通过 SEREX 技术从食管癌组织中筛选得到。此后,大量文献相继报道,在神经母细胞瘤、滑膜肉瘤、恶性黑

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81471625)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81471625)

[作者简介] 虞淦军(1990-),男,浙江省金华市人,硕士生,主要从事肿瘤免疫治疗研究,E-mail:yuganjin@126.com

[通信作者] 万涛(Wan Tao, corresponding author),E-mail:taowan@immunol.org

素瘤、卵巢癌等肿瘤组织中表达较高,在结直肠癌、肝癌、尿路上皮癌、多发性骨髓瘤、肺癌中也有不同程度的表达(表1),为将来免疫治疗的应用提供了基础。NY-ESO-1 在正常组织中也有表达,但是由于血脑屏障的存在,使得这些正常组织并不会遭受免疫毒性,说明 NY-ESO-1 具有肿瘤特异性,展现了良好的临床应用前景。

NY-ESO-1 除了天然表达外,还能被某些药物诱导表达。Gunda 等^[6]发现,5-氮杂-2'脱氧胞苷(DAC)能够增加在原位小鼠模型与 BCPAP 细胞系中 NY-ESO-1 的表达。对于 NY-ESO-1 阴性或者低表达的甲状腺癌患者来说,这为后期接受免疫治疗提供了可能。

表1 NY-ESO-1 在不同肿瘤组织中的表达[n/N (%)]

疾病名称	NY-ESO-1 检测阳性率	检测方法	疾病发病率
恶性黑色素瘤 ^[7]	263/586(45.0)	免疫组化	中国:1/10 万 欧美:4/10 万
滑膜肉瘤 ^[8]	20/25 (80.0)	RT-PCR 和免疫组化	
成神经细胞瘤 ^[9]	18/22 (82.0)	RT-PCR 和免疫组化	美国:2.5/10 万 中国:0.5/10 万
卵巢癌 ^[10]	82/190 (43.0) 11/37 (30.0)	RT-PCR 和免疫组化 ELISA*	
多发性骨髓瘤 ^[11]	mRNA:13/50(26.0) 蛋白质:2/27(17.0) 血清抗体:1/33(3.0)	RT-PCR 免疫组化 ELISA	2~3/10 万
鼻咽癌 ^[12]	48/112(42.9)	ELISA 检测自身抗体 (联合 VCA-IgA*)	20~50/10 万
肝细胞癌 ^[13]	mRNA:18/41 (43.9) 蛋白质:3/18(7.4) 血清抗体:2/92(2.2)	RT-PCR 免疫组化 ELISA	14.6~46.0/10 万
非小细胞肺癌 ^[14]	24/132 (18.2)	免疫组化	12~35/10 万
弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 ^[15]	9/24(37.5)	免疫组化	2~4/10 万
尿路上皮癌 ^[16]	123/350(35.0)	RT-PCR	1~2/10 万

* ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay; VCA-IgA: Viral capsid antigen immunoglobulin A

2 NY-ESO-1 的免疫学特性

2.1 NY-ESO-1 抗原表位

T 细胞在识别肿瘤抗原过程中,并不是识别整个抗原分子,而是识别 MHC 分子递呈的抗原分子中一段肽表位。随着人工短肽合成、酶联免疫斑点试验、五聚体技术等免疫学技术的不断应用和发展^[17],研究者已经发现了 20 多个 CD4⁺ 或 CD8⁺ T 细胞识别表位(表2),按照 HLA 分子的类型主要分为 3 类:HLA-I 类^[17],HLA-II 类^[18-19]以及 HLA-I 和 HLA-II 类分子提呈的抗原肽^[20],其中以 HLA-I 类分子中 HLA-A2 和 HLA-DRB 限制性抗原肽居多。p155-163(QLSLLMWIT)、p157-165(SLLMWITQC)

和 p157-167(SLLMWITQCFL)三个 NY-ESO-1 抗原肽已经被证实可以诱导产生 NY-ESO-1(+)肿瘤患者特异性的 CTL 反应,应用于临床肿瘤免疫治疗。

实验表明,抗原肽的不同表位具有不同的结合力和免疫原性,天然的 p157-165 抗原肽中羧基端的半胱氨酸残基易被氧化,因此有研究者通过个别氨基酸替代的方法进行了改造^[25-26],产生特异性 CTL 的能力至少提高了 100 倍,从而有效增强了其结合力和稳定性,大大提高了免疫原性。但是人工合成的多肽可能由于缺乏翻译后修饰,其诱导产生的免疫反应与天然加工的多肽有所差异。Campos-Peres^[27]小组也对该问题进行了探索,将一个破伤风毒素的结构域融合到肿瘤来源的 NY-ESO-1 肽序列 C

末端中(pDOM-肽),也大大提高了其免疫原性,并且已经证实它比普通的合成肽(SLLMWITQC)能引

起更加强烈的免疫反应,对内源性表达 NY-ESO-1 的肿瘤细胞更具有杀伤效应。

表2 NY-ESO-1 的 CD4⁺ 或 CD8⁺ T 细胞识别表位

分 类	HLA 限制性	肽段定位	表位肽序列
HLA- I 类限制性 分子 ^[17, 21, 22]	HLA-A2	157-167	SLLMWITQCFL
	HLA-A2	157-165	SLLMWITQC
	HLA-A2	155-163	QLSLLMWIT
	HLA-A24	158-166	LLMWITQCF
	HLA-B51	94-102	MPFATPMEA
	HLA-B35	94-102	MPFATPMEA
	HLA-Cw3	92-100	LAMPFATPM
	HLA-Cw6	80-88	ARGPESRLL
	HLA-DRB1	121-130	VLLKEFTVSG
	HLA-DRB4	115-132	PLPVPGVLLKEFTVSGNI
	HLA-DRB4	121-138	VLLKEFTVSGNILTIRLT
	HLA-DRB4	139-156	AADHRQLQLSISSCLQQL
	HLA-DP4	161-180	WITQCFLPVFLAQPSPGQRA
	HLA-DRB1	134-148	TIRLTAADHRQLQLS
HLA-DRB1	123-137	LKEFTVSGNILTIRL	
HLA- II 类限制性 分子 ^[18-19, 23-24]	HLA-DRB1	119-133	PGVLLKEFTVSGNIL
	HLA-DR4	119-143	PGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHR
	HLA-DR4	129-143	SGNILTIRLTAADHR
	HLA-DR4	122-130	LLKEFTVSG
	HLA-DR4	126-134	FTVSGNILT
	HLA-DR4	132-140	ILTIRLTAA
	HLA-DR4	144-169	QLQLSISSCLQLSLLMWITQCFLPV
	HLA-DR4	147-155	LSISSCLQQ
	HLA-DR4	153-161	LQQLSLLMW
	HLA-DR4	158-166	LLMWITQCF
	HLA-DR4	161-170	WITQCFLPV
	HLA-DR4	158-180	LLMWITQCFLPVFLAQPSPGQRR
	HLA-DR4	162-170	FLPVFLAQP
	HLA-DR4	166-174	VFLAQPSPG
HLA-DR4	169-177	FLAQPSPGQ	
HLA- I 类和 HLA- II 类 限制性分子 ^[20]	HLA-A2, HLA-DP4	157-170	SLLMWITQCFLPVF

长肽因具有多个 T 细胞表位也备受关注。Eikawa 等^[28] 对一个长达 20 肽的 NY-ESO-1 疫苗进行研究后,首次对 HLA-A:2402 上的 NY-ESO-191-

101, HLA-B:3501 上的 NY-ESO-1 92-102, HLA-B:5201 上的 NY-ESO-1 96-104 和 HLA-C:1202 上的 NY-ESO-1 96-104 新表位进行了定义,并发现 HLA-

A:2402 上的 NY-ESO-191-101 在人群中表达频率高达 60%,所有新表位与 CD8⁺T 细胞具有较强的亲和力,这些研究结果给肿瘤免疫治疗又提供了新的表位选择。也有研究者^[29]应用 NY-ESO-1 全长蛋白疫苗,发现其在理论上具有更多优势:(1)不受 HLA-I 类和 HLA-II 类分子的限制,可提供多个表位;(2)诱导免疫反应的潜能更大,增强抗肿瘤效应;(3)与佐剂 ISCOMATRIX(IMX)混合进行免疫接种能预防肿瘤在动物模型中的生长。短肽、长肽或者全长蛋白各有利弊。短肽结构明确,但表位单一;长肽或全长蛋白具有多个表位,但结构复杂,可能无法很好地暴露优势表位而限制了其免疫应答的激活。抗原表位决定肿瘤相关抗原的免疫原性,是激活免疫应答的结构基础,因此优势表位的探究仍然是肿瘤免疫治疗研究的重要课题。

2.2 自发性特异性免疫反应

研究发现,在 NY-ESO-1 mRNA 阳性的恶性黑色素瘤患者中,50%患者血清中存在自发性特异性抗体^[30]。对 1374 名乳腺癌患者进行血液检测后发现,1%的患者体内可以检测到自发性的 NY-ESO-1 特异性抗体^[31]。此外,在肺癌^[32]、多发性骨髓瘤^[33]等患者中也有类似发现,说明 NY-ESO-1 具有较强的激发特异性体液免疫应答的能力。

不仅如此,NY-ESO-1 还能诱导自发性特异性细胞免疫反应,主要是激活 CD4⁺和 CD8⁺T 淋巴细胞。Jager 团队^[34]首先发现 NY-ESO-1 能诱导特异性的细胞免疫应答,随后 Chen、Zeng 等^[35]也相继发现 NY-ESO-1 抗原肽能被 CD4⁺或 CD8⁺T 淋巴细胞所识别,并与 HLA-I 类或 HLA-II 类分子结合,产生特异性的细胞免疫应答,而且 90%以上血清 NY-ESO-1 抗体(+)的患者体内存在特异性 CTL。因此,NY-ESO-1 被认为是迄今发现的免疫原性最强的肿瘤特异性抗原之一。

NY-ESO-1 虽然能激发机体自身的免疫应答反应,但常会被肿瘤微环境所抑制^[36],从而影响抗肿瘤效应。因此人为地改造免疫细胞,激活或增强免疫应答的强度和抗肿瘤效应是肿瘤免疫治疗的重要思路和方法。

3 NY-ESO-1 的临床研究进展

3.1 NY-ESO-1 与肿瘤诊断

近年来,甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、胰腺、肠癌相关抗原(CA19-9)等肿瘤相关抗原为肝癌、消化道癌等的早期诊断提供了重要的参考依据。NY-ESO-1 作为一种重要的肿瘤相关抗原,在肿瘤早

期诊断、肿瘤发生发展的监测、治疗效果的评价等方面也显现出其重要的价值,为临床诊疗提供了一定的证据。

在上皮组织来源的肿瘤中,Peng 等^[12]对 112 例鼻咽癌患者和 138 例正常对照进行研究对比发现,NY-ESO-1 和 VCA-IgA 自身抗体联合筛查可以明显提高检测灵敏度(80.4%)和特异性(90.6%),提示 NY-ESO-1 特异性自身抗体的检测对鼻咽癌患者具有早期诊断作用,可作为潜在的生物标志物及对鼻咽癌的筛查和诊断进行补充。在胃癌诊断中,当 NY-ESO-1 抗体与癌胚抗原(CEA)和 CA19-9 组合来检测胃癌时,Ⅲ期和Ⅳ期患者的准确率提高了 11.2%,在所有胃癌患者中提高了 5.8%,未复发的患者术后 NY-ESO-1 免疫反应水平出现明显下降,甚至低于临界值,提示当 NY-ESO-1 与传统的肿瘤标记物联合检测时,NY-ESO-1 的体液免疫应答水平对于检测晚期胃癌和推断血清反应阳性患者治疗后的肿瘤负荷情况可能是一个有效的肿瘤标记物^[37]。

在间叶组织来源的肿瘤中,Lai 等^[38]对 50 例 SS18/SSX1/2 融合基因阳性的滑膜肉瘤,155 例胃肠道间质瘤(GISTs),135 例梭形细胞肉瘤,以及 77 例多样的肉瘤进行免疫组化分析后得出结论,NY-ESO-1 在滑膜肉瘤中持续稳定表达,可以与其他肉瘤进行很好地鉴别。目前临床上,单从组织学的角度很难将滑膜肉瘤和其他梭形细胞肿瘤(特别是在小的活检标本)进行鉴别,而且迄今为止也没有很好的标志物进行区分,NY-ESO-1 的出现可能将改变这一现状。

在生殖细胞肿瘤中,Kao 等^[39]对 94 例精原细胞瘤、胚胎癌和实体卵黄囊瘤进行分析后发现,NY-ESO-1 相比于 NUT、GAGE7 在诊断方面具有更高的敏感性和特异性(NUT、GAGE7:41%,60%;NY-ESO-1:59%,97%),对于精原细胞的诊断具有重要的意义。

3.2 NY-ESO-1 与患者预后判定

NY-ESO-1 在判断患者预后方面 also 具有重要意义,但是目前 NY-ESO-1 的表达对于肿瘤患者的预后是否有利仍然有一定的争论。研究发现,NY-ESO-1 的表达对于不同组织类型的肿瘤患者,其预后或有利或不利,其具体的原因机制尚不清楚,可能与 NY-ESO-1 是否能引起患者的自发性特异性免疫应答有关。

Laban 等^[40]对 453 例头颈部鳞癌患者进行多因素分析后认为,NY-ESO-1 是不良预后的独立指标之一。Xu Heng 小组^[41]也在分析了 120 例肝细胞癌

患者资料后发现, NY-ESO-1 的表达与术后肝细胞癌的复发密切相关($P = 0.007$), Kaplan-Meier 分析发现 NY-ESO-1 阳性患者的无复发生存率(RFS)更短(log-rank 检验, $P = 0.003$)。在 III 期非小细胞肺癌、尿路上皮癌等肿瘤中, 也有类似的结果^[14, 16]。不过目前, 针对这一现象的具体机制尚未研究清楚。

而 Marija 等^[42]研究了 90 例鼻咽癌患者 NY-ESO-1 表达与预后的关系, 可能由于样本不足的原因, 最终结果未发现统计学差异(log-rank 检验, $P = 0.219$), 但是 5 年无病生存期曲线显示了 NY-ESO-1 (+) 患者具有更好预后的趋势。Chiara 等^[43]对 109 名宫颈癌患者进行研究分析后发现, NY-ESO-1 (+) 与 NY-ESO-1 (-) 的三年生存率曲线并无差异(79% vs 77%), 认为 NY-ESO-1 的表达与宫颈癌患者预后无关。

NY-ESO-1 表达与肿瘤患者预后的关系可能与 NY-ESO-1 是否引起机体强烈的免疫应答有关。NY-ESO-1 表达水平的高低并不能完全反映患者预后好坏, NY-ESO-1 特异性免疫反应可能更具有价值。Weide 等^[44]对 84 例黑素瘤患者进行研究后发现, 体内有 NY-ESO-1 或/和 Melan-A 反应性 T 细胞的患者平均生存时间明显好于 MAGE-3 和 M category(M1a, M1b, M1c)组(21 个月 vs 6 个月)。因此, 在黑素瘤远处转移的患者中, 外周血是否存在针对 NY-ESO-1 或 Melan-A 的 T 细胞可以作为晚期黑素瘤患者预后的一个重要的独立影响因素。

3.3 NY-ESO-1 与肿瘤治疗

3.3.1 NY-ESO-1 抗原疫苗 肿瘤治疗性疫苗是肿瘤免疫治疗的一种主要手段。根据疫苗形式不同, 通常可以分为蛋白疫苗、多肽疫苗、基因疫苗、DC 疫苗、肿瘤细胞疫苗等, 其主要机制是激活或者增强机体肿瘤特异性的免疫反应, 从而发挥抗肿瘤效应, 并有效地抑制肿瘤复发和转移。

目前, 以 NY-ESO-1 为基础的 DC 疫苗、多肽疫苗、蛋白疫苗等各类肿瘤疫苗的临床试验相继开展, 如我国学者冷希圣等^[45]用 HLA-A2 限制性 NY-ESO-1b 肽/Montanide[®] ISA-51VG 联合人重组 GM-CSF 对表达 NY-ESO-1/LAGE-1 的肝细胞癌患者术后免疫治疗, 以消除残余病灶, 目前该疫苗已经获得中国食品药品监督管理局(SFDA)批准进入临床试验研究阶段。还有研究者^[46]从 DC 入手, 设计了首个应用于人的靶向 DC 蛋白疫苗 CDX-1401, 其是 DEC-205 融合到全长的肿瘤抗原 NY-ESO-1 构成的肿瘤治疗性疫苗。经过该疫苗治疗后, 13/45 例患者病情稳定, 中位生存期为 6.7 个月(2.4 ~ 13.4

个月), 其中 2 例患者肿瘤缩小(靶病灶缩小约 20%), 3 个月内曾接受免疫检查点抑制剂的 6/8 名患者观察到客观的肿瘤消退。这一研究证明了其可行性、安全性和生物活性, 并提供了联合免疫治疗策略的合理性, 包括免疫检查站封锁。此外, 在转移性去势抵抗性前列腺癌的治疗中, 患者对个性化的 HLA I 类和/或 II 类限制性 NY-ESO-1 肽制备的肿瘤疫苗耐受性良好, 可能可以减慢单纯化疗患者的前列腺特异抗原(prostate specific antigen, PSA)倍增时间, 增强患者产生的抗原特异性 T 细胞反应^[47]。

NY-ESO-1 抗原作为迄今发现的免疫原性最强的肿瘤相关抗原之一, 为肿瘤疫苗的开发和应用提供了比较理想的靶标, 具有良好的前景和潜力。多项临床试验已经证明了肿瘤疫苗的安全性和耐受性, 但是由于肿瘤的异质性和患者的个体差异, 针对单一表位或者抗原的肿瘤疫苗效果可能并不理想, 因此设计、开发个体性疫苗或者多价疫苗可能是一种比较好的解决方案。此外, 抗原的纯化与制备、抗原剂量的选择、树突状细胞的应用、佐剂/细胞因子的联合使用、疫苗接种的疗程、患者的预处理等都是肿瘤疫苗应用于临床必须考虑和解决的问题。

3.3.2 NY-ESO-1 抗原特异性 TCR 基因修饰 T 细胞 过继性细胞免疫治疗(adoptive cellular immunotherapy, ACT)目前越来越受到研究者的重视, 其基本原理是将具有抗原特异性识别功能的免疫细胞经体外扩增后回输入患者体内, 从而发挥抗肿瘤效应。近年来, 许多学者分离出肿瘤相关抗原特异性 TCR(T cell receptor, TCR)基因, 然后通过慢病毒、逆转录病毒或者其他非病毒载体将其转入 T 细胞并表达, 在短期内获得大量具有特异性识别抗原能力的 T 细胞, 并进行了一系列临床前或临床试验, 取得了一些可喜的成果。

Robbins 研究小组^[48]将 NY-ESO-1 抗原特异性 TCR 基因修饰的 T 细胞回输给 6 名滑膜细胞肉瘤患者和 11 名恶性黑素瘤患者, 结果 4 名滑膜细胞肉瘤患者和 5 名恶性黑素瘤患者取得了明显的治疗效果, 包括 2 名完全缓解的患者, 而且无一例发生明显的不良反应。尽管 TCR 基因修饰的 T 细胞展现了良好的临床疗效, 但是也有研究者发现, 某些患者的肿瘤仍能逃脱免疫治疗的杀伤。Klippel 等^[49]发现, 接受过继 NY-ESO-1 特异性 T 细胞疗法后又复发的恶性黑素瘤患者可能与其体内细胞 MHC 丢失有关, 从而形成了免疫逃逸。此外, Sommermeyer 等^[50]发现不同来源 TCR 的亲合力和结合力也有差

异。尽管自体或异体 HLA-A2 限制性 CTL 克隆识别的是相同的 NY-ESO-1 表位,但是它们的结合能力和功能是有区别的,且 CTL 克隆的功能和 MHC-NY-ESO-1-TCR 多聚物的结合不相关。他们还发现异体来源的 TCR 发生脱靶反应的风险更高,这对于 TCR 基因修饰的 T 细胞治疗的临床应用具有一定指导意义。

目前提高 TCR 亲和力和减少 TCR $\alpha\beta$ 链错配率已经成为 TCR 基因治疗的热点,但是还有两个问题值得关注:T 细胞的肿瘤微环境和 TCR 的安全性问题。调节性 T 细胞^[51]、髓系来源的抑制性细胞^[52]以及一些细胞因子^[53]都会对输入的基因修饰 T 细胞产生影响,从而影响 T 细胞的杀伤功能。TCR 错配或亲和力过高等原因导致的自身免疫性疾病也不可忽视。

3.3.3 NY-ESO-1 嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cell, CART) 嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)修饰 T 细胞是过继性细胞免疫治疗的又一种治疗方式。其基本原理是将识别肿瘤抗原的单链抗体 scFv(single chain variable fragment, scFv)和 T 细胞的活化基序(通常为 CD3 ζ 和 Fc ϵ RI γ)结合,通过转导载体系统转入 T 淋巴细胞,使其具有特异性识别和杀伤肿瘤细胞的能力。这种 T 淋巴细胞不仅结合了抗体对肿瘤抗原高亲和性、高特异性的特点,还具有 T 淋巴细胞的杀伤活性,因此很快受到研究者的关注。

Schuberth 等^[54]在进行的一项临床前研究中,设计了 NY-ESO-1 肽 157-165 特异性的 CART 细胞,并直接将这些改造后的抗 NY-ESO-1-T1-CD28/CD3 ζ T 细胞回输给 NY-ESO-1(+)小鼠模型,发现大量 IFN- γ 等细胞因子的分泌,在体内外均能发挥抗肿瘤效应,对小鼠具有保护作用。CAR 修饰 T 细胞相对其他基因治疗方法要复杂得多,成本也高得多,目前只有少数研究机构进行相关的临床试验,主要围绕 EGFR、VEGF 等靶抗原^[55-56]。双靶抗原 CAR 的研究目前已经成为一个热点,尽管尚没有关于 NY-ESO-1 的研究报道,不过 Weide 等^[44]的研究已经提供了一个很好的研究基础,展示了诱人的前景。他们发现,恶性黑素瘤患者中,体内未检测到肿瘤相关抗原特异性细胞反应的平均存活时间为 4 个月,而一个肿瘤相关抗原特异性细胞反应的平均存活时间为 6 个月,两个及以上的为 24 个月,提示多肿瘤相关抗原特异性反应具有更强的抗肿瘤效应,从而提高患者的生存时间。

4 小 结

NY-ESO-1 具有多个表位,引起多种肿瘤患者的自发性体液和细胞免疫反应,其强烈的免疫原性已经受到研究者的广泛关注,在临床诊疗中也显现出重要的价值和意义。NY-ESO-1 的表达情况或血清中特异性抗体的滴度水平已经可以作为某些肿瘤的早期诊断、疾病进展和治疗效果的重要指标;针对 NY-ESO-1 的免疫治疗也取得了显著的进展,但探讨更有效的免疫诊断、免疫治疗手段仍是主要的研究方向。如何提高特异性 TCR 基因修饰 T 细胞的亲和力,如何减少内外源性 TCR 的错配率;如何设计完美的信号组合,得到更高效、更安全的第四代 NY-ESO-1 抗原特异性 CART 细胞;如何将细胞因子与过继细胞完美搭配,提高过继细胞的杀伤效率和体内存活时间,都是未来肿瘤免疫治疗需要解决的重要课题。在可预见的将来, NY-ESO-1 为基础的免疫治疗将成为肿瘤治疗的重要手段。

[参 考 文 献]

- [1] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy [J]. Science, 2013, 342(6165): 1432-1433.
- [2] Chen YT. The journey from autologous typing to SEREX, NY-ESO-1, and cancer/testis antigens [J]. Cancer Immun, 2012, 12(1): 8.
- [3] Murphy R, Green S, Ritter G, et al. Recombinant NY-ESO-1 cancer antigen: Production and purification under cGMP conditions [J]. Prep Biochem Biotechnol, 2005, 35(2): 119-134.
- [4] Liu Y, Tian X, Leitner WW, et al. Polymeric structure and host Toll-like receptor 4 dictate immunogenicity of NY-ESO-1 antigen in vivo [J]. J Biol Chem, 2011, 286(43): 37077-37084.
- [5] Chen YT. Cancer vaccine: Identification of human tumor antigens by SEREX [J]. Cancer J, 2000, 6(Suppl 3): 208-217.
- [6] Gunda V, Frederick DT, Bernasconi MJ, et al. A potential role for immunotherapy in thyroid cancer by enhancing NY-ESO-1 cancer antigen expression [J]. Thyroid, 2014, 24(8): 1241-1250.
- [7] Barrow C, Browning J, MacGregor D, et al. Tumor antigen expression in melanoma varies according to antigen and stage [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(3 Pt 1): 764-771.
- [8] Jungbluth AA, Antonescu CR, Busam KJ, et al. Monophasic and biphasic synovial sarcomas abundantly express cancer/testis antigen NY-ESO-1 but not MAGE-A1 or CT7 [J]. Int J Cancer, 2001, 94(2): 252-256.
- [9] Rodolfo M, Luksch R, Stockert E, et al. Antigen-specific immunity in neuroblastoma patients: Antibody and T-cell recognition of NY-ESO-1 tumor antigen [J]. Cancer Res, 2003, 63(20): 6948-6955.
- [10] Odunsi K, Jungbluth AA, Stockert E, et al. NY-ESO-1 and LAGE-1 cancer-testis antigens are potential targets for immuno-

- therapy in epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(18): 6076-6083.
- [11] de Carvalho F, Vettore AL, Inaoka RJ, et al. Evaluation of LAGE-1 and NY-ESO-1 expression in multiple myeloma patients to explore possible benefits of their homology for immunotherapy [J]. *Cancer Immun*, 2011, 11(1):1.
- [12] Peng YH, Xu YW, Qiu SQ, et al. Combination of autoantibodies against NY-ESO-1 and viral capsid antigen immunoglobulin A for improved detection of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(3): 1096-1102.
- [13] Nakamura S, Nouse K, Noguchi Y, et al. Expression and immunogenicity of NY-ESO-1 in hepatocellular carcinoma [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21(8): 1281-1285.
- [14] Kim SH, Lee S, Lee CH, et al. Expression of cancer-testis antigens MAGE-A3/6 and NY-ESO-1 in non-small-cell lung carcinomas and their relationship with immune cell infiltration [J]. *Lung*, 2009, 187(6): 401-411.
- [15] Hudolin T, Kastelan Z, Ilic I, et al. Immunohistochemical analysis of the expression of MAGE-A and NY-ESO-1 cancer/testis antigens in diffuse large B-cell testicular lymphoma [J]. *J Transl Med*, 2013, 11(1): 123.
- [16] Dyrskjot L, Zieger K, Kissow Lildal T, et al. Expression of MAGE-A3, NY-ESO-1, LAGE-1 and PRAME in urothelial carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2012, 107(1): 116-122.
- [17] Gnjatic S, Nagata Y, Jager E, et al. Strategy for monitoring T cell responses to NY-ESO-1 in patients with any HLA class I allele [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(20): 10917-10922.
- [18] Jäger E, Jäger D, Karbach J, et al. Identification of NY-ESO-1 epitopes presented by human histocompatibility antigen (HLA)-DRB4*0101-0103 and recognized by CD4⁺ T lymphocytes of patients with NY-ESO-1-expressing melanoma [J]. *J Exp Med*, 2000, 191(4): 625-630.
- [19] Mizote Y, Taniguchi T, Tanaka K, et al. Three novel NY-ESO-1 epitopes bound to DRB1*0803, DQB1*0401 and DRB1*0901 recognized by CD4⁺ T cells from CHP-NY-ESO-1-vaccinated patients [J]. *Vaccine*, 2010, 28(32): 5338-5346.
- [20] Zeng G, Li Y, El-Gamil M, et al. Generation of NY-ESO-1-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells by a single peptide with dual MHC class I and class II specificities: a new strategy for vaccine design [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(13): 3630-3635.
- [21] Jager E, Chen YT, Drijfhout JW, et al. Simultaneous humoral and cellular immune response against cancer-testis antigen NY-ESO-1: Definition of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-A2-binding peptide epitopes [J]. *J Exp Med*, 1998, 187(2): 265-270.
- [22] Sotiropoulou PA, Perez SA, Voelter V, et al. Natural CD8⁺ T-cell responses against MHC class I epitopes of the HER-2/neu oncoprotein in patients with epithelial tumors [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2003, 52(12): 771-779.
- [23] Zeng G, Wang X, Robbins PF, et al. CD4⁺ T cell recognition of MHC class II-restricted epitopes from NY-ESO-1 presented by a prevalent HLA DP4 allele: Association with NY-ESO-1 antibody production [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(7): 3964-3969.
- [24] Zarour HM, Storkus WJ, Brusic V, et al. NY-ESO-1 encodes DRB1*0401-restricted epitopes recognized by melanoma-reactive CD4⁺ T cells [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(17): 4946-4952.
- [25] Webb AI, Dunstone MA, Chen W, et al. Functional and structural characteristics of NY-ESO-1-related HLA A2-restricted epitopes and the design of a novel immunogenic analogue [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(22): 23438-23446.
- [26] Chen JL, Dunbar PR, Gileadi U, et al. Identification of NY-ESO-1 peptide analogues capable of improved stimulation of tumor-reactive CTL [J]. *J Immunol*, 2000, 165(2): 948-955.
- [27] Campos-Perez J, Rice J, Escors D, et al. DNA fusion vaccine designs to induce tumor-lytic CD8⁺ T-cell attack via the immunodominant cysteine-containing epitope of NY-ESO 1 [J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(6): 1400-1407.
- [28] Eikawa S, Kakimi K, Isobe M, et al. Induction of CD8 T-cell responses restricted to multiple HLA class I alleles in a cancer patient by immunization with a 20-mer NY-ESO-1f (NY-ESO-1 91-110) peptide [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(2): 345-354.
- [29] Chen JL, Dawoodji A, Tarlton A, et al. NY-ESO-1 specific antibody and cellular responses in melanoma patients primed with NY-ESO-1 protein in ISCOMATRIX and boosted with recombinant NY-ESO-1 fowlpox virus [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(6): E590-601.
- [30] Stockert E, Jager E, Chen YT, et al. A survey of the humoral immune response of cancer patients to a panel of human tumor antigens [J]. *J Exp Med*, 1998, 187(8): 1349-1354.
- [31] Hamai A, Duperrier-Amouriaux K, Pignon P, et al. Antibody responses to NY-ESO-1 in primary breast cancer identify a subtype target for immunotherapy [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(6): e21129.
- [32] Tureci O, Mack U, Luxemburger U, et al. Humoral immune responses of lung cancer patients against tumor antigen NY-ESO-1 [J]. *Cancer Lett*, 2006, 236(1): 64-71.
- [33] van Rhee F, Szmania SM, Zhan F, et al. NY-ESO-1 is highly expressed in poor-prognosis multiple myeloma and induces spontaneous humoral and cellular immune responses [J]. *Blood*, 2005, 105(10): 3939-3944.
- [34] Jager E, Stockert E, Zidianakis Z, et al. Humoral immune responses of cancer patients against "cancer-testis" antigen NY-ESO-1: Correlation with clinical events [J]. *Int J Cancer*, 1999, 84(5): 506-510.
- [35] Zeng G, Touloukian CE, Wang X, et al. Identification of CD4⁺ T cell epitopes from NY-ESO-1 presented by HLA-DR molecules [J]. *J Immunol*, 2000, 165(2): 1153-1159.
- [36] Weide B, Martens A, Zelba H, et al. Myeloid-derived suppressor cells predict survival of patients with advanced melanoma: Comparison with regulatory T cells and NY-ESO-1- or melan-A-specific T cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(6): 1601-1609.
- [37] Fujiwara S, Wada H, Kawada J, et al. NY-ESO-1 antibody as a novel tumour marker of gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(5): 1119-1125.
- [38] Lai JP, Rosenberg AZ, Miettinen MM, et al. NY-ESO-1 expres-

- sion in sarcomas: A diagnostic marker and immunotherapy target [J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(8): 1409-1410.
- [39] Kao CS, Badve SS, Ulbright TM. The utility of immunostaining for NUT, GAGE7 and NY-ESO-1 in the diagnosis of spermatocytic seminoma [J]. *Histopathology*, 2014, 65(1): 35-44.
- [40] Laban S, Atanackovic D, Luetkens T, et al. Simultaneous cytoplasmic and nuclear protein expression of melanoma antigen-A family and NY-ESO-1 cancer-testis antigens represents an independent marker for poor survival in head and neck cancer [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(5): 1142-1152.
- [41] Xu H, Gu N, Liu ZB, et al. NY-ESO-1 expression in hepatocellular carcinoma: A potential new marker for early recurrence after surgery [J]. *Oncol Lett*, 2012, 3(1): 39-44.
- [42] Pastorcic-Grgic M, Sarcevic B, Dosen D, et al. Prognostic value of MAGE-A and NY-ESO-1 expression in pharyngeal cancer [J]. *Head Neck*, 2010, 32(9): 1178-1184.
- [43] Napolitano C, Bellati F, Tarquini E, et al. MAGE-A and NY-ESO-1 expression in cervical cancer: prognostic factors and effects of chemotherapy [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 198(1): 99. e1-7.
- [44] Weide B, Zelba H, Derhovanessian E, et al. Functional T cells targeting NY-ESO-1 or Melan-A are predictive for survival of patients with distant melanoma metastasis [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(15): 1835-1841.
- [45] 彭吉润, 冷希圣. NK-ESO-1 抗原与肿瘤免疫治疗进展 [J]. *中国医学科学院学报*, 2008, 30(4): 371-377.
- [46] Dhodapkar MV, Szoln M, Zhao B, et al. Induction of antigen-specific immunity with a vaccine targeting NY-ESO-1 to the dendritic cell receptor DEC-205 [J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(232): 232-251.
- [47] Sonpavde G, Wang M, Peterson LE, et al. HLA-restricted NY-ESO-1 peptide immunotherapy for metastatic castration resistant prostate cancer [J]. *Invest New Drugs*, 2014, 32(2): 235-242.
- [48] Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, 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.
- [49] Klippel ZK, Chou J, Towlerton AM, et al. Immune escape from NY-ESO-1-specific T-cell therapy via loss of heterozygosity in the MHC [J]. *Gene Ther*, 2014, 21(3): 337-342.
- [50] Sommermeyer D, Conrad H, Kronig H, et al. NY-ESO-1 antigen-reactive T cell receptors exhibit diverse therapeutic capability [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(6): 1360-1367.
- [51] Gabrilovich DI, Bronte V, Chen SH, et al. The terminology issue for myeloid-derived suppressor cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(1): 425.
- [52] Filipazzi P, Valenti R, Huber V, et al. Identification of a new subset of myeloid suppressor cells in peripheral blood of melanoma patients with modulation by a granulocyte-macrophage colony-stimulation factor-based antitumor vaccine [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(18): 2546-2553.
- [53] Flavell RA, Sanjabi S, Wrzesinski SH, et al. The polarization of immune cells in the tumour environment by TGFbeta [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(8): 554-567.
- [54] Schuberth PC, Jakka G, Jensen SM, et al. Effector memory and central memory NY-ESO-1-specific re-directed T cells for treatment of multiple myeloma [J]. *Gene Ther*, 2013, 20(4): 386-395.
- [55] Jensen MC, Riddell SR. Design and implementation of adoptive therapy with chimeric antigen receptor-modified T cells [J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1): 127-144.
- [56] Barrett DM, Singh N, Porter DL, et al. Chimeric antigen receptor therapy for cancer [J]. *Annu Rev Med*, 2014, 65(2): 333-347.
- [收稿日期] 2014 - 08 - 23 [修回日期] 2014 - 12 - 05
[本文编辑] 阮芳铭

· 荣誉榜 ·

曹雪涛院士科研教学团队荣膺中国研究生教育成果特等奖

日前,由本刊主编曹雪涛院士领衔的科研教学团队在首届中国研究生教育成果奖评选中荣膺唯一的特等奖。该奖项每两年评奖一次,是目前国内研究生教育理论研究与教学实践的最高规格奖项。

曹院士团队申报的评比项目为《医学免疫学研究生拔尖创新人才“思行”教育模式的探索与实践》,着眼于研究生教育中“人才培养—优秀成果—科技转化—反哺学科”的良性循环,贯彻拔尖创新人才“思行”教育模式,受到了同行专家的一致好评。

曹院士团队在育人理念、内容、方式、管理等方面寻求突破。针对研究生入学前成分复杂多样,存在自我意识强、奉献精神弱的特点,为每位研究生量身订制攻读硕士、博士的学业计划,要求学生坚持在某个专业方向潜心钻研。同时,通过名师大家言传身教谈信仰、优秀学长谈心得等方式引导学生“埋头科研、追求卓越、严谨求实”。作为我国首个医学免疫学国家重点实验室,坚持科研选题与实验室承担的重大课题紧密相关,在解决前沿科学难题的实战中全面提高研究生的创新能力。

该科教团队重视师道队伍的建设,先后选派 10 余名教师赴美、德、日等国家进修学习,精心提升队伍的专业水准;定期组织师生课题进度报告会,举办顶级杂志最新论文研讨会,开展文体比赛等活动,密切师生关系,倡道“快乐科研”。经过 20 年实践,在人才培养上实现了由“追赶前沿”转向“引领前沿”,成为国内外免疫学领域颇受瞩目的创新团队。曹雪涛院士团队培养的博士生共有 12 名获评“全国百篇优秀博士学位论文”,在全国众多导师中遥遥领先,曹院士本人被评为“中国大学最牛研究生导师”。

(本刊编辑部)