

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.02.009

· 专家论坛 ·

肿瘤过继免疫细胞治疗靶抗原选择的新视野

魏枫,任秀宝(天津医科大学肿瘤医院免疫室,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市肿瘤免疫与生物治疗重点实验室,天津 300060)



魏枫 2007年毕业于天津医科大学,获得肿瘤学博士学位,导师为郝希山院士。2008年至2012年作为博士后访问学者赴美国国家癌症研究所(NCI)分子免疫调节实验室(LMI),在警报素(alarmin)概念的提出者Oppenheim博士和杨德博士直接指导下开展警报素在抗肿瘤免疫中作用的研究,参与发现已知最强的刺激Th1类免疫反应的警报素HMGNI,并证明警报素HMGNI可以作为肿瘤疫苗佐剂诱导强大的抗原特异性免疫反应。这些发现提示了警报素在肿瘤生物治疗领域广阔的应用前景。现主要从事肿瘤生物治疗应用基础研究,研究方向为以警报素为佐剂的新型肿瘤疫苗的研发和以基因修饰T细胞为代表的免疫细胞治疗新策略的研究。先后主持国家科技重大专项子课题、国家自然科学基金、天津市科委面上项目等多项课题,在*Cancer Research*等高水平期刊发表第一作者学术论文多篇。E-mail: iwuffle@hotmail.com



任秀宝 博士,教授,主任医师,博士生导师。现任天津医科大学肿瘤医院生物治疗科主任,天津市医学生物技术应用研究中心主任,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副主任委员兼秘书长,中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会副主任委员,中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会常委,天津市抗癌协会肿瘤专业委员会常委。多年来从事肿瘤生物治疗和肿瘤免疫方面的临床与应用基础研究,先后主持国家科技攻关计划、国家973专项课题、国家自然科学基金、天津市科委重点项目等十余项。近5年发表学术论文50余篇,其中SCI收录论文30余篇;获得省部级科研奖励3项;获得“国家特支计划”百千万工程领军人才等荣誉称号。E-mail: rwziyi@yahoo.com

[摘要] 过继免疫细胞输注(adoptive cell transfer, ACT)属于肿瘤的被动免疫疗法。转移性黑素瘤患者在接受了ACT治疗后,部分患者肿瘤出现了持久的完全消退,显示了ACT在肿瘤治疗中的强大潜力。基因修饰淋巴细胞技术进一步为我们打开了肿瘤ACT治疗新领域的大门。肿瘤ACT治疗成功的关键在于如何鉴定出肿瘤细胞上合适的具有免疫原性的靶点,从而使肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)或基因修饰淋巴细胞只攻击肿瘤细胞而不损伤正常组织。肿瘤组织过表达的分化抗原、共有非突变的肿瘤抗原以及肿瘤间质来源的抗原等大多在正常组织上有低水平表达,并非肿瘤ACT治疗的合适靶点。相反,共有突变的肿瘤特异性抗原、病毒癌基因编码的抗原以及个体肿瘤的独特驱动性突变产物有望成为肿瘤ACT治疗的理想靶点。越来越多的证据显示,未来肿瘤免疫治疗的进展很可能来自于免疫靶向个体肿瘤的独特突变抗原,尤其是对肿瘤致癌性至关重要的基因的突变产物。

[关键词] 肿瘤;抗原;过继性细胞;突变

[中图分类号] R730.54; R392.12; Q78

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)02-0191-06

New horizons in target antigen selection in adoptive cell therapy of cancer

Wei Feng, Ren Xiubao (Department of Immunology, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital; National Clinical Research Center for Cancer; Tianjin Key Laboratory of Cancer Immunology and Biotherapy, Tianjin 300060, China)

[基金项目] 国家科技支撑计划资助项目(No. 2015BAI12B12);天津市应用基础与前沿技术研究计划资助项目(No. 13JCYBJC41400, No. 14JCTPJC00476)。Project supported by the Key Technologies R&D Program of China (No. 2015BAI12B12), and the Tianjin Application Foundation and Advanced Technology Research Program (No. 13JCYBJC41400, No. 14JCTPJC00476)

[**Abstract**] Adoptive cell transfer (ACT) is a passive immunotherapy of cancer. Recently, researchers have observed that durable complete cancer regressions can be achieved in patients with metastatic melanoma after ACT, encouragingly suggesting a great potential for ACT in the treatment of cancer in clinical settings. This potential can be further enhanced when genetic modification of lymphocytes is performed. The key to the success of adoptive cell therapy is the identification of suitable immunologic targets on cancer cells that can be attacked by tumor infiltrating lymphocytes (TIL) or genetically modified lymphocytes without damaging normal tissues. Differentiation antigens overexpressed on cancers, shared non-mutated antigens of cancers, and antigens from tumor stroma are not suitable targets of ACT due to their low level expression in normal tissues. On the contrary, antigens encoded by shared mutations, viral oncogenes, or unique driver mutations may serve as ideal targets of ACT. Further development of ACT will result from new adoptive cell immunotherapy strategies with lymphocytes that recognize mutated antigens, in particular those derived from gene products that are involved in carcinogenesis.

[**Keywords**] tumor; antigen; adoptive cell transfer (ACT); mutation

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(2): 191-196]

过继免疫细胞输注(adoptive cell transfer, ACT)属于肿瘤的被动免疫疗法,指的是分离肿瘤患者自体肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte, TIL)或者外周血淋巴细胞,在体外加以分选、扩增、活化,并回输至患者体内。该过程通常还包括非清髓性预处理和免疫刺激剂的应用,有的方案还包括在扩增前对淋巴细胞进行基因修饰,使其靶向特定抗原并表达内源性免疫刺激分子或回输后持续存在更长时间。肿瘤抗原特异性的 ACT 治疗是当前国内外研究的热点,其成功的关键在于选择肿瘤细胞上合适的免疫原性的靶点,从而使得输注的免疫细胞只攻击肿瘤细胞而不损伤正常组织。本文将围绕这一关键问题,结合最新研究进展对肿瘤 ACT 治疗常见靶点及相应治疗策略进行分析,并在此基础上探讨肿瘤 ACT 治疗的发展方向。

1 过继性细胞治疗热点和共性问题

TIL 治疗是最早的肿瘤抗原特异性 ACT 治疗方法,该方法是 20 世纪 80 年代美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)国立癌症研究所(National Cancer Institute, NCI)的 Rosenberg 等研发的。TIL 是肿瘤患者体内天然存在的具有抗肿瘤活性的淋巴细胞,分离后在白细胞介素 2(interleukin-2, IL-2)等因子作用下可以进行体外扩增,然后回输到患者体内发挥抗肿瘤作用^[1-3]。临床上,对于恶性黑色素瘤和肾细胞癌,TIL 治疗是最常用的 ACT 治疗。近期进行的一系列临床试验中,常规治疗难治的转移性黑色素瘤患者,经非清髓性预处理后,使用自体 TIL 联合 IL-2 治疗,总有效率接近 50%,甚至可以有 20% 至 40% 的患者获得持久的肿瘤消退^[4,6],显示了 ACT 在肿瘤治疗中的强大潜力。

然而,对 TIL 的研究现阶段大多集中于黑色素瘤,这主要是因为黑色素瘤的 TIL 较易获取。实际上,临床上很多情况下是无法应用 TIL 的,比如有的患者缺乏肿瘤标本,还有的患者肿瘤或转移灶中淋巴细胞浸润很少。在这种情况下,ACT 就要使用外周血淋巴细胞了。所幸,随着生物技术的迅猛发展,尤其是基因工程技术的进步,基因修饰的方法能够将识别肿瘤抗原的 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)或嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)基因导入淋巴细胞,使之成为 TCR 基因修饰 T 淋巴细胞或 CAR-T 细胞,从而人工赋予这些淋巴细胞对肿瘤抗原的靶向识别能力^[7-8]。这一进步使得研究者能够获得大量抗原特异性的 T 淋巴细胞,从而克服了黑色素瘤之外的其他类型肿瘤难以获取具有抗肿瘤活性的淋巴细胞的问题,大大推动了以免疫细胞为基础的肿瘤靶向治疗的发展,打开了肿瘤 ACT 治疗新领域的大门。

TCR 是 T 细胞表面能够识别和结合蛋白质抗原的特异性受体。TCR 基因修饰 T 淋巴细胞技术出现较早,但 TCR 具有主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制性,而且许多肿瘤细胞还能够通过下调或突变其 MHC 分子以逃避免疫监视,从而使得 TCR 基因修饰的 T 淋巴细胞的临床应用具有一定局限性^[9]。

CAR 分子在结构和功能上与 TCR/CD3 复合物十分类似,是表达在细胞膜外的单链抗体(single-chain fragment of variable region, scFv)通过胞外铰链区和跨膜区与胞内的 T 细胞活化序列组成的融合蛋白^[10-11]。第一代 CAR-T 细胞只具有单一的活化信号(常用 CD3 分子 ζ 链),体内存留时间短,很快出现失能。为此,第二代 CAR 在胞内部分增加了

共刺激分子(最常用的是 CD28)信号结构域,在提供活化信号的同时也提供了共刺激信号。第三代 CAR 的主要标志为胞内区采用了不止一个共刺激分子信号结构域。CAR 对肿瘤细胞的识别是通过 scFv 介导的,不受 MHC 限制,其靶标分子可以不限于蛋白/多肽抗原。而共刺激分子信号结构域的引入则有效地克服了肿瘤通过下调共刺激分子造成的免疫逃逸,进一步增强了 CAR-T 细胞的活化能力和在患者体内持续存在的时间^[12-13]。

TCR 基因修饰 T 淋巴细胞和 CAR-T 细胞在临床试验中都取得了一定的成功^[14-15],但大多数的此类临床试验中都观察到了不同程度的毒性反应,甚至包括一些致命的并发症。这些与基因修饰 T 细胞 ACT 治疗相关的毒性作用主要分为两大类:正常组织毒性(所谓 on-target toxicity)和脱靶毒性(off-target toxicity)。前者指的是基因修饰 T 细胞对同样表达其靶点的正常组织的毒性,这种毒性很常见;后者则指对不表达这些靶分子的正常组织或器官的毒性,其发生有一定的概率,预防较为困难。

基因修饰 T 细胞对正常组织的毒性是肿瘤 ACT 治疗面临的共性问题,一直妨碍着这些研究真正从实验室走向临床。如何鉴定出肿瘤细胞上合适的免疫原性的靶点,从而使得基因修饰 T 细胞只攻击肿瘤细胞而不损伤正常组织,是肿瘤 ACT 治疗成功与否的关键。

2 ACT 靶抗原分类和抗原选择策略

在肿瘤 ACT 治疗的实践中常见的抗原根据其来源、表达部位以及突变与否可以分为七类^[16]。

2.1 过表达于肿瘤的分化抗原

靶向肿瘤组织过表达而正常组织表达量很低的分化抗原曾经是肿瘤免疫治疗研究的热点。TIL 治疗在转移性黑色素瘤患者中所取得的成功最初也被归功于这些 TIL 细胞所普遍表达的识别黑色素瘤/黑色素细胞分化抗原(如 MART-1^[17]和 gp-100^[18])的 TCR,但现在看来似乎没有这么简单。有研究者^[19]使用特异性靶向 MART-1 或 gp-100 的高亲和力 TCR 基因修饰的 T 细胞治疗转移性黑色素瘤,意外地观察到了对眼、耳等正常表达黑色素组织的严重毒性反应,包括前房浸润、虹膜扩张、听力下降等。而在 TIL 治疗有效的转移性黑色素瘤患者中却极少观察到这种毒性^[5],提示 TIL 其实是通过靶向其他的抗原发挥抗肿瘤活性的。癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是胃肠道肿瘤过表达的另一个分化抗原,在靶向 CEA 的 ACT 治疗中也发生了类似的

情况。有研究者^[20]报道,靶向 CEA 的高亲和力 TCR 可以导致严重的结肠炎。这些毒性在很大程度上妨碍了靶向分化抗原的 ACT 治疗的临床应用。此外,还有若干使用 CAR-T 靶向此类分化抗原的研究正在进行中。前面提到过,第二、三代 CAR-T 具有更强的活化能力和在患者体内更长的持续时间,但也正因为如此,CAR-T 的靶点选择必须更加谨慎,否则其对正常组织的毒性会更严重。例如,曾有研究者^[21]使用携带 CD28 和 4-1BB 共刺激结构域的靶向人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, Her-2)的 CAR-T 细胞治疗了一位结肠癌肝肺转移的患者,该患者在接受 CAR-T 细胞输注后 15 min 出现呼吸窘迫和严重的肺浸润,最终出现心脏骤停而死亡。研究者^[21-22]认为,这一毒性反应的根源在于肺上皮细胞低水平表达 Her-2,结果导致大量 CAR-T 细胞浸润到肺并引发了 CAR-T 常见的副反应细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS),其又称细胞因子风暴(cytokine storm)。

2.2 仅表达于肿瘤和非关键的正常组织的抗原

靶向过表达于肿瘤组织的分化抗原的尝试受困于对正常组织的毒性,那么能不能靶向仅表达于肿瘤和非关键的正常组织的抗原呢?毕竟如果能够清除恶性肿瘤的话,付出某些非关键的正常组织受损的代价也是可以承受的。这方面一个相当成功的例子就是通过靶向 CD19 这一表达于正常 B 细胞的抗原来治疗白血病和淋巴瘤。2010 年,研究者^[23-24]首次报告靶向 CD19 的 ACT 治疗晚期白血病和淋巴瘤获得成功,虽然在此过程中正常 B 细胞也同样被清除,但通过使用免疫球蛋白可以很大程度上克服这一毒性。2014 年 10 月 16 日的《新英格兰医学杂志》报道 CD19-CAR-T 治疗 30 例复发、难治的急性淋巴细胞白血病患者,完全缓解率达到 90%,缓解时间最长者达 24 个月^[25],这一结果是十分令人鼓舞的。当前,已有多项靶向 CD19 的 CAR-T 疗法正在进行临床试验,诺华公司和 Juno 公司的 CD19-CAR-T 已分别于 2014 年 7 月和 11 月获得美国食品药品监督管理局(U. S. Food and Drug Administration, FDA)突破性疗法认定。可惜的是,除 CD19 外,此类抗原尚未见其他成功的例子。

2.3 共有非突变的肿瘤抗原

癌-睾丸抗原(cancer-testes antigens, CTA)是此类抗原的代表,这类蛋白在胚胎时期表达,而在成年后的正常组织中通常处于表观沉默状态,但在约 10%至 80%的常见上皮性肿瘤中重新表达。这些

肿瘤包括膀胱癌、肺癌、肝癌等。此类抗原中比较突出的一个是 NY-ESO-1, 现认为它仅表达于肿瘤。通过 NY-ESO-1 高亲和力 TCR 基因修饰的自体淋巴细胞治疗, 研究者成功地使转移性滑膜肉瘤和转移性黑色素瘤患者体内的肿瘤大幅消退^[26]。应用这一方案治疗其他 NY-ESO-1 阳性实体瘤的研究正在进行中。必须要引起研究者足够重视的是, 总数超过 100 种的 CTA 中, 大部分在正常组织上有低水平的表达, 而这同样可能成为严重毒性反应的源泉^[16]。此外, 脱靶效应也不得不防, 比如, 虽然人黑色素瘤相关抗原 3 (melanoma antigen family A3, MAGE-A3) 不表达于正常组织, 但靶向 MAGE-A3 的一个 HLA-A2 限制性表位的 ACT 治疗却意外地导致了严重的神经系统毒性。研究者^[27]最终发现, 这是因为该 MAGE-A3 表位与表达于脑的 MAGE-A12 的一个表位非常相似。

2.4 共有突变的肿瘤特异性抗原

此类抗原指的是不表达于正常组织而又为某一类型肿瘤所共有的突变, 这些突变是基因修饰淋巴细胞靶抗原的理想来源, 表皮生长因子受体 III 型突变体 (epidermal growth factor receptor v III, EGFRv III) 是这类靶点的代表^[28]。EGFRv III 表达于约 40% 的高分化级别胶质瘤细胞表面, 该突变来自于 EGFR 第 2 至第 7 外显子的框内缺失 (in-frame deletion), 并导致 EGFR 组成性活化, 可以在没有配体结合的情况下激活酪氨酸激酶, 启动下游信号转导, 进而使含有此突变的细胞的增殖、侵袭能力以及运动能力增强, 最终导致肿瘤的发生。EGFRv III-CAR 在小鼠脑胶质瘤模型中已经取得了成功, 用于人的 EGFRv III-CAR 正在研发中^[29]。

2.5 病毒编码的抗原

参与肿瘤发生的病毒经常会导致外源病毒蛋白在肿瘤细胞上的表达, 而正常组织则通常无此蛋白表达, 因此, 这些病毒编码的抗原也是理想的 ACT 靶点。此类备选的靶点包括人乳头瘤病毒 (papillomavirus, HPV) E6、E7 蛋白以及 EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 潜伏膜蛋白 1 (latent membrane protein 1, LMP1) 和 LMP2 等, 这些抗原均不在正常组织表达^[30]。筛选此类抗原时有一点需要注意, 作为 ACT 治疗的靶点, 该蛋白应是被感染的细胞恶性转化所必须的关键分子。例如, 现已上市的 HPV 预防性疫苗是根据 HPV 的衣壳蛋白 L1 设计的, 而在宫颈癌进展过程中 L1 可能丢失, 并不适于作为 ACT 治疗靶点。研究^[31]显示, HPV 病毒癌基因产物 E6、E7 等蛋白通过影响细胞内的 p53、Rb 等信号通路导

致癌变, 而且 E6、E7 蛋白在宫颈癌及癌前病变中持续表达, 与癌变密切相关, 很少发生抗原丢失及免疫逃逸。因此, 对 HPV 所致宫颈癌和癌前病变的 ACT 治疗, 选择 E6、E7 作为靶点比 L1 更为适当。

2.6 肿瘤间质的重要组分

肿瘤细胞仅是瘤体的一部分, 肿瘤间质的某些关键成分也可能成为理想的肿瘤免疫治疗靶点。血管内皮生长因子受体-2 (vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2) 在肿瘤血管过表达, 成纤维细胞活化蛋白 (fibroblast activation protein, FAP) 在肿瘤间质的活化成纤维细胞过表达, 它们都可能成为 ACT 治疗的靶点, 但需注意的是, 这两个分子在正常组织也有低水平表达, 以它们为靶点的治疗可能导致一定的毒性^[32-33]。

2.7 个体肿瘤的独特突变

基因突变是恶性肿瘤中的一个普遍现象, 同时基因突变本身也是细胞恶性转化的动因之一, 未来肿瘤免疫治疗的进展很可能来自于免疫靶向这些突变蛋白^[16, 34]。黑色素瘤含有非常多的突变, 这可能源于紫外线对皮肤的致突变作用。本文开头就提到, 部分转移性黑色素瘤患者在接受了 TIL 治疗后, 出现持久的肿瘤完全消退。但也由此提出了一个问题, 这些 TIL 细胞的抗原靶点到底是什么? 毕竟, 并非所有的接受上述治疗的患者都达到了长期缓解。对此一个可能的解释为: 黑色素瘤含有的突变包括两类, 一类是驱动性的, 另一类是随机的。靶向突变基因产物的 TIL 大部分识别的是随机突变的产物, 而对于肿瘤来说这些随机突变的产物并非是维持致癌性所必需的。因此肿瘤细胞可以通过突变、下调、甚至基因缺失来逃避这些 TIL 的杀伤。相反, 一旦 TIL 靶向肿瘤细胞某些不可丢弃的突变基因产物, 亦即与致癌性密切相关的驱动性突变的产物, 就可能获得更好的疗效, 甚至达到长期缓解。前面提到的 EGFRv III 本质上就是一种驱动性突变的产物。这一科学假设现已得到证实, 近期, Rosenberg 的研究团队^[35-36]对经 TIL 治疗后获得长期缓解的恶性黑色素瘤患者的肿瘤进行了全外显子组测序和生物信息学分析, 成功发现了这些患者体内 TIL 细胞的新的突变靶点。其结果表明, 黑色素瘤 TIL 细胞造成持久的肿瘤完全消退的独特能力正是来自于其对个体肿瘤的独特突变的特异性识别。尤其值得注意的是, 这些研究者最新发表的一份报告揭示, 这些新发现的 TIL 靶点都来自于与细胞增殖相关的重要基因的突变^[36]。

3 结语与展望

通过对上述七类肿瘤 ACT 治疗常见靶点的分析可以看出,肿瘤组织过表达的分化抗原、以 CTA 为代表的共有非突变的肿瘤抗原以及肿瘤间质来源的抗原都面临着在正常组织上低水平表达的问题,缺乏足够的特异性,毒副作用难以避免。而 CD19 的成功模式又尚不能在其他类型肿瘤中复制。相反,共有突变的肿瘤特异性抗原、病毒癌基因编码的抗原以及个体肿瘤的独特驱动性突变产物则是肿瘤 ACT 治疗靶点的理想来源。究其原因,这些与致瘤性密切相关的驱动性突变的产物是恶性肿瘤发生发展和维持致瘤性所必需的,肿瘤细胞逃避免疫细胞杀伤的许多拿手好戏无法在这些关键抗原上施展。遗憾的是,这三类理想抗原中,前两类已发现的靶点数量十分有限。因此,个体肿瘤的独特驱动性突变就更值得我们重视。

TIL 在靶向黑色素瘤独特突变中取得的成功提示我们,识别其他肿瘤的独特突变的 TIL 或者基因修饰淋巴细胞很可能同样成为有效的治疗手段。然而,大部分其他类型实体瘤的突变数量仅为黑色素瘤的五分之一乃至十分之一,如何成功靶向这些突变可能会成为一个棘手的问题^[16]。在大部分肿瘤中,与驱动性的或随机的突变起反应的 T 细胞很可能十分稀少,但鉴定个体肿瘤的独特外显子突变并获得靶向这些突变的 T 细胞的方法正在积极研发中^[37-40]。

2014 年 12 月 19 日出版的 *Science* 杂志将肿瘤联合免疫治疗列为 2015 年值得关注的四大科学领域之一,并特别强调了各种免疫疗法之间或免疫疗法与其他疗法的联合应用^[41]。免疫检查点(im-mune checkpoint)是当前免疫治疗研究的热点之一,过去的几个月内,已有多个研究显示免疫检查点抑制剂可以增强突变抗原特异性的 T 细胞的抗肿瘤活性^[42-44]。这提示我们,免疫检查点抑制剂与靶向个体肿瘤独特突变的 ACT 的联合免疫治疗也是一个非常有希望的发展方向。

在不久的将来,有望使用适当的基因筛选方法来分析每个肿瘤,找到对该肿瘤致癌性至关重要的基因突变,进而分离纯化出靶向该突变基因产物的 T 淋巴细胞,在体外对其加以培养扩增用于 ACT 治疗。甚至更进一步,分离纯化出这些 T 细胞后,还可以获取其 TCR 编码基因,以逆转录病毒、慢病毒等为载体,用该 TCR 基因修饰患者外周血 T 淋巴细胞,获得大量特异性靶向驱动性突变基因产物的淋

巴细胞,显著增强 ACT 的疗效^[39]。这些突变抗原特异性的 T 淋巴细胞,与免疫检查点抑制剂、携带突变抗原的肿瘤疫苗等,将组成肿瘤的个体化免疫治疗的主力军,在肿瘤的个体化综合治疗中,发挥更为积极的作用。

[参考文献]

- [1] Rosenberg SA. Cell transfer immunotherapy for metastatic solid cancer--what clinicians need to know [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(10): 577-585.
- [2] Phan GQ, Rosenberg SA. Adoptive cell transfer for patients with metastatic melanoma: The potential and promise of cancer immunotherapy [J]. *Cancer Control*, 2013, 20(4): 289-297.
- [3] Itzhaki O, Levy D, Zikich D, et al. Adoptive T-cell transfer in melanoma [J]. *Immunotherapy*, 2013, 5(1): 79-90.
- [4] Radvanyi LG, Bernatchez C, Zhang M, et al. Specific lymphocyte subsets predict response to adoptive cell therapy using expanded autologous tumor-infiltrating lymphocytes in metastatic melanoma patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(24): 6758-6770.
- [5] Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, 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.
- [6] Itzhaki O, Hovav E, Ziporen Y, et al. Establishment and large-scale expansion of minimally cultured "young" tumor infiltrating lymphocytes for adoptive transfer therapy [J]. *J Immunother*, 2011, 34(2): 212-220.
- [7] June CH, Maus MV, Plesa G, et al. Engineered T cells for cancer therapy [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(9): 969-975.
- [8] Barrett DM, Singh N, Porter DL, et al. Chimeric antigen receptor therapy for cancer [J]. *Annu Rev Med*, 2014, 65: 333-347.
- [9] Zoete V, Irving M, Ferber M, et al. Structure-based, rational design of T cell receptors [J]. *Front Immunol*, 2013, 4: 268.
- [10] Hudecek M, Sommermeyer D, Kosasih PL, et al. The non-signaling extracellular spacer domain of chimeric antigen receptors is decisive for in vivo antitumor activity [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(2): 125-135.
- [11] 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.
- [12] Shirasu N, Kuroki M. Functional design of chimeric T-cell antigen receptors for adoptive immunotherapy of cancer: Architecture and outcomes [J]. *Anticancer Res*, 2012, 32(6): 2377-2383.
- [13] Sadelain M, Brentjens R, Riviere I. The basic principles of chimeric antigen receptor design [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(4): 388-398.
- [14] Aranda F, Vacchelli E, Obrist F, et al. Trial watch: Adoptive cell transfer for anticancer immunotherapy [J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e28344.
- [15] Hinrichs CS, Rosenberg SA. Exploiting the curative potential of adoptive T-cell therapy for cancer [J]. *Immunol Rev*, 2014, 257

- (1):56-71.
- [16] Rosenberg SA. Finding suitable targets is the major obstacle to cancer gene therapy [J]. *Cancer Gene Ther*, 2014, 21(2):45-47.
- [17] Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, et al. Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(9): 3515-3519.
- [18] Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, et al. Identification of a human melanoma antigen recognized by tumor-infiltrating lymphocytes associated with in vivo tumor rejection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(14): 6458-6462.
- [19] Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, 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] Parkhurst MR, Yang JC, Langan RC, 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.
- [21] Morgan RA, Yang JC, Kitano M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2 [J]. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 843-851.
- [22] Xu XJ, Tang YM. Cytokine release syndrome in cancer immunotherapy with chimeric antigen receptor engineered T cells [J]. *Cancer Lett*, 2014, 343(2):172-178.
- [23] Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19 [J]. *Blood*, 2010, 116(20): 4099-4102.
- [24] Kochenderfer JN, Rosenberg SA. Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(5): 267-276.
- [25] Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(16): 1507-1517.
- [26] 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.
- [27] Morgan RA, 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.
- [28] Morgan RA, Johnson LA, Davis JL, et al. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRv III and development of adoptive cell therapy for glioma [J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23(10): 1043-1053.
- [29] Sampson JH, Choi BD, Sanchez-Perez L, et al. EGFRv III mCAR-modified T-cell therapy cures mice with established intracerebral glioma and generates host immunity against tumor-antigen loss [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(4): 972-984.
- [30] Bollard CM, Gottschalk S, Torrano V, et al. Sustained complete responses in patients with lymphoma receiving autologous cytotoxic T lymphocytes targeting Epstein-Barr virus latent membrane proteins [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(8): 798-808.
- [31] Tjalma WA and Depuydt CE. Cervical cancer screening: Which HPV test should be used--L1 or E6/E7? [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2013, 170(1): 45-46.
- [32] Chinnasamy D, Yu Z, Theoret MR, et al. Gene therapy using genetically modified lymphocytes targeting VEGFR-2 inhibits the growth of vascularized syngenic tumors in mice [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(11): 3953-3968.
- [33] Tran E, Chinnasamy D, Yu Z, et al. Immune targeting of fibroblast activation protein triggers recognition of multipotent bone marrow stromal cells and cachexia [J]. *J Exp Med*, 2013, 210(6): 1125-1135.
- [34] Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes [J]. *Science*, 2013, 339(6127): 1546-1558.
- [35] Robbins PF, Lu YC, El-Gamil M, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells [J]. *Nat Med*, 2013, 19(6): 747-752.
- [36] Lu YC, Yao X, Crystal JS, et al. Efficient identification of mutated cancer antigens recognized by T cells associated with durable tumor regressions [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(13): 3401-3410.
- [37] Gubin MM, Zhang X, Schuster H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581.
- [38] Yadav M, Jhunjhunwala S, Phung QT, et al. Predicting immunogenic tumour mutations by combining mass spectrometry and exome sequencing [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 572-576.
- [39] Blankenstein T, Leisegang M, Uckert W, et al. Targeting cancer-specific mutations by T cell receptor gene therapy [J]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 33C:112-119.
- [40] Linnemann C, van Buuren MM, Bies L, et al. High-throughput epitope discovery reveals frequent recognition of neo-antigens by CD4⁺ T cells in human melanoma [J]. *Nat Med*, 2015, 21(1): 81-85.
- [41] Areas to watch in 2015 [J]. *Science*, 2014, 346(6216): 1450.
- [42] Snyder A, Makarov V, Merghoub T, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(23):2189-2199.
- [43] Berrien-Elliott MM, Yuan J, Swier LE, et al. Checkpoint blockade immunotherapy relies on T-bet but not comes to induce effector function in tumor-infiltrating CD8⁺ T cells [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(2): 116-124.
- [44] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Science*, 2015. [Epub ahead of print].

[收稿日期] 2015 - 03 - 19

[修回日期] 2015 - 03 - 26

[本文编辑] 黄静怡