

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.08.001

· 专家论坛 ·

T细胞受体工程化T细胞抗肿瘤治疗的现状与挑战

陈晓彤, 刘宝瑞 (南京大学医学院附属鼓楼医院 肿瘤中心暨南京大学临床肿瘤研究所, 江苏 南京 210008)

[摘要] T细胞受体工程化T细胞(T cell receptor-engineered T cells, TCR-T)是目前肿瘤免疫治疗领域的研究热点之一,从2006年首个临床试验成功至今已经取得了一系列令人鼓舞的成果,但快速发展的同时其在杀伤性、安全性、持久性这三方面仍面临着许多问题。改善肿瘤免疫微环境,增强TCR-T的趋化、浸润与活化将是提高其杀伤肿瘤作用的关键;新抗原具有高度的肿瘤特异性与免疫原性,是保障治疗安全有效和实现个体化肿瘤免疫治疗的基础;另外,回输低分化的T细胞亚群是产生持久免疫应答的可靠方法。本文将结合当前的研究进展,从以上三个角度阐述TCR-T抗肿瘤治疗的现状与挑战。

[关键词] T细胞受体工程化T细胞(TCR-T);靶抗原;肿瘤微环境;T细胞亚群

[中图分类号] R392.12; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)08-0755-07

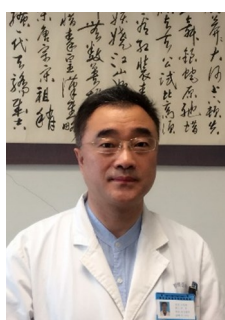
Current situation and challenges of T cell receptor-engineered T cells in anti-tumor therapy

CHEN Xiaotong, LIU Baorui (Comprehensive Cancer Centre of Drum Tower Hospital, Medical School of Nanjing University, Clinical Cancer Institute of Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu, China)

[Abstract] T cell receptor-engineered T cell (TCR-T) therapy is one of the hotspots in the field of cancer immunotherapy. Considerable achievements have been made since the first successful clinical trial in 2006. However, problems still remain in cytotoxicity, safety and persistence of TCR-T therapy despite the rapid development. Improving the immunosuppressive tumor microenvironment and enhancing chemotaxis, infiltration as well as activation of TCR-T cell will be the key to improve its anti-tumor effect. Neoantigens, which are highly tumor-specific and immunogenic, are the basis for safe and effective treatment and individualized cancer immunotherapy. Besides, infusion of less differentiated T cell subsets is also a reliable way to generate a long-lasting immune response. Here, combining with current research progress, we offer our perspectives on the current situation and challenges of TCR-T from the three aspects above.

[Key words] T cell receptor-engineered T cell (TCR-T); target antigen; tumor microenvironment; T cell subsets

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(8): 755-761. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.08.01]



刘宝瑞 主任医师、教授、博士生导师,美国MD、Anderson Cancer Center 博士后,南京大学医学院附属鼓楼医院副院长、肿瘤中心主任、南京大学临床肿瘤研究所所长。担任中国抗癌协会肿瘤整合分会副主委、中国生物医学工程学会肿瘤靶向治疗技术分会主委、江苏省医学会肿瘤化疗与生物治疗分会候任主委等。主要

从事消化系统肿瘤的个体化药物治疗及靶向免疫治疗,主持国家自然科学基金项目8项(含国际合作研究重大项目1项)。获国家发明专利10项,获中华医学科技二、三等奖,教育部科技进步二等奖等,主编临床肿瘤学专著5部,以第一或通信作者身份发表SCI论文145篇。

T细胞受体工程化T细胞(T cell receptor-engineered T cell, TCR-T)指将能特异性识别肿瘤抗原的T细胞受体(T cell receptor, TCR)基因导入患

者外周T细胞,使其表达外源性TCR,从而具有抗肿瘤活性^[1]。2002年,ROSENBERG团队^[2]率先证实从黑色素瘤中分离出来的肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)可以特异性杀伤黑色素瘤细胞,对TIL进行体外扩增并回输后可观察到肿瘤的消退;但在其他类型的肿瘤中TIL往往不易获得,且体外扩增耗时长,扩增后多为终末分化的T细胞,肿瘤杀伤作用不能持久^[3]。因此,人们转而探究能否通过克隆已知的肿瘤特异性TCR基因,利用患者正常外周血淋巴细胞(peripheral blood lympho-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81672367)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81672367)

[作者简介] 陈晓彤(1995-),女,临床医学八年制在读,主要从事肿瘤免疫治疗研究, E-mail: 131232002@smail.nju.edu.cn

[通信作者] 刘宝瑞(LIU Baorui, corresponding author), E-mail: baorui-liu@nju.edu.cn

cyte, PBL)进行治疗, 于是 TCR-T 诞生了。2006 年, MORGAN 等^[4]首次使用针对 MART-1 的 TCR-T 细胞治疗 17 例黑色素瘤患者, 其中 2 例获得长达 20 个月的客观缓解, 并且在整个试验过程中未观察到明显的毒副作用, 证明了 TCR-T 的临床可行性。随后一系列试验相继开展, TCR-T 疗效不断得到证实, 已成为当今最有前景的肿瘤疗法之一^[3]。但是, 快速发展的同时仍存在着诸多问题^[5]。本文将从 TCR-T 治疗的杀伤性、安全性、持久性三个方面, 结合当前在肿瘤免疫抑制微环境的改善、靶抗原的选择以及 T 细胞活力的维持等方面所取得的成果, 阐述 TCR-T 抗肿瘤的现状及挑战。

1 杀伤性

具有足够强的肿瘤杀伤性是 TCR-T 运用于临床抗肿瘤的首要前提。目前已开展的临床试验主要集中在恶性黑色素瘤^[4,6-10]、滑膜肉瘤^[8-10]、食管癌^[8,11]等实体瘤, 并取得了令人振奋的成果(表 1)。2015 年, ROBBINS 等^[9]共纳入 20 例恶性黑色素瘤和 18 例滑膜

肉瘤患者, 回输 1×10^{10} 数量级靶向 NY-ESO-1、HLA-A*0201 限制性的 TCR-T 后, 分别获得了 4 例完全缓解(complete response, CR)、7 例部分缓解(partial response, PR)和 1 例 CR、10 例 PR 的惊人效果, 同时观察到多发肝、肺转移和骨盆转移病灶的持续消退; 试验前使用 PD-L1 抗体无效的患者 TCR-T 治疗后也获得了 6 个月的 PR。针对血液肿瘤的临床试验相对较少, 但也展示出其良好的抗肿瘤作用。2015 年, RAPOPORT 等^[12]对 20 例多发性骨髓瘤患者回输 1×10^9 数量级靶向 NY-ESO-1 和 LAGE-1、HLA-A*0201 限制性的 TCR-T, 共有 14 例 CR、4 例 PR, 最长者持续应答超过 2 年。

但在令人兴奋的同时也应当看到, 相当部分的患者外周血中存在抗原反应性 T 细胞, 且肿瘤组织持续表达靶抗原, 却依然不能阻止病情进展^[10,13-15]。这种免疫逃逸的发生有多方面的原因, 其中十分重要的一点是肿瘤微环境对 T 细胞趋化、浸润和局部激活的抑制作用^[16-17]。为进一步提高 TCR-T 的杀伤性, 可采取以下两方面的措施。

表 1 目前已完成的 TCR-T 临床试验

| 靶抗原 | 肿瘤类型 | 例数 | OR(%) | PR | CR | 毒性反应 | 文献 |
|------------------------|--|----|--------|----|----|-------------------|------|
| MART-1/HLA-A2 | 黑色素瘤 | 17 | 2(12) | 2 | 0 | 无 | [4] |
| MART-1/HLA-A2 | 黑色素瘤 | 20 | 6(30) | 6 | 0 | 3级:皮肤、听力、视力毒性 | [6] |
| gp100/HLA-A2 | 黑色素瘤 | 16 | 3(19) | 2 | 1 | 3级:皮肤、听力、视力毒性 | [6] |
| CEA/HLA-A2 | 结直肠癌 | 3 | 1(33) | 1 | 0 | 3级:结肠炎 | [38] |
| MAGE-A3/HLA-A2 | 黑色素瘤/滑膜肉瘤/食管癌 | 9 | 5(56) | 3 | 2 | 精神状态改变、死亡 | [8] |
| MAGE-A3/HLA-A1 | 黑色素瘤/多发性骨髓瘤 | 2 | 0 | 0 | 0 | 心脏毒性、死亡 | [7] |
| MAGE-A3/HLA-DP4 | 黑色素瘤/食管癌/肛门鳞癌/ 宫颈癌/乳腺癌/尿道上皮癌/ 滑膜肉瘤/骨肉瘤 | 17 | 4(24) | 3 | 1 | 3-4级:ALT、AST、肌酐升高 | [10] |
| MAGE-A4/HLA-A24 | 食管癌 | 10 | 0 | 0 | 0 | 无 | [11] |
| NY-ESO-1,LAGE-1/HLA-A2 | 多发性骨髓瘤 | 20 | 18(90) | 4 | 14 | 无 | [12] |
| NY-ESO-1,LAGE-1/HLA-A2 | 黑色素瘤 | 20 | 11(55) | 7 | 4 | 无 | [9] |
| NY-ESO-1,LAGE-1/HLA-A2 | 滑膜肉瘤 | 18 | 11(61) | 10 | 1 | 无 | [9] |
| WT1/HLA-A24 | 急性髓系白血病 | 2* | 0 | 0 | 0 | 2级:静脉炎 | [39] |

*其中另有 6 例为高危骨髓增生异常综合征

1.1 措施一:克服肿瘤微环境对 T 细胞趋化和浸润的抑制

在 T 细胞向肿瘤组织迁移的过程中, 趋化因子和黏附分子扮演了重要角色^[18]。但肿瘤组织往往下调 CXCL9、CXCL10 等 CD8⁺ T 细胞趋化因子以及 ICAM-1 等黏附因子表达水平, 同时缺氧诱导形成结构功能缺陷的异常血管, 导致 T 细胞不能向肿瘤聚集。另外, 致密的细胞外基质进一步影响了 T 细胞的浸润^[19]。

目前有大量促进 T 细胞趋化浸润的研究开展: (1) 针对趋化因子, PENG 等^[20]发现肿瘤细胞可以通过 DNMT1 介导的 DNA 甲基化和 EZH2 介导的组蛋白三甲基化使 CXCL9、CXCL10 分泌减少, 联用抑制 DNMT1 的表观遗传学药物 5-AzaC 和抑制 EZH2 的 DZNep 可以增加趋化因子的表达, 加强 T 细胞浸润; 通过基因工程使 T 细胞表达合适的趋化因子受体如 CCR2^[21]、CXCR2^[22]等也可以显著提高抗肿瘤疗效。(2) 针对黏附

分子, BUCKANOVICH等^[23]发现 ICAM-1的下调与肿瘤内皮细胞的内皮素B受体(ETBR)的过表达有关,使用其抑制剂BQ-788可观察到T细胞向肿瘤聚集增加。(3)针对异常血管生成,单独应用VEGF单抗效果不佳,但临床前试验显示抗VEGF治疗可以使肿瘤血管结构正常化,提高血管内皮细胞和基底膜覆盖率,因而可以增加其他药物向肿瘤组织的运输^[24];KIEDA等^[25]也证明,三焦磷酸肌醇(inositol trispyrophosphate, ITPP)可以抑制低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)、激活内皮细胞的抑癌基因PTEN,从而抑制PI3K通路导致肿瘤血管正常化,减少血管渗漏和肿瘤生长,增强药物疗效。(4)针对致密的细胞外基质,体外扩增的T细胞对细胞外基质的降解能力显著下降,硫酸乙酰肝素蛋白多糖(heparan sulphate proteoglycans, HSPG)是细胞外基质的主要成分,将针对HSPG的乙酰肝素酶(heparanase)基因导入T细胞使其稳定表达后,T细胞的浸润能力和抗肿瘤活性都大大增强^[26]。

1.2 措施二:克服肿瘤微环境对T细胞活化的抑制

T细胞的活化不仅需要TCR与MHC-抗原肽复合物结合所产生的第一信号,还依赖于共刺激分子所提供的第二信号。共刺激分子有起正性和负性调节作用两类。肿瘤细胞^[27]、血管内皮细胞^[28]、骨髓源性抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)^[29-30]等可上调负性共刺激分子如PD-L1表达,抑制已到达肿瘤局部的T细胞增殖及活化,使其失去肿瘤反应性。使用CTLA-4、PD-1/PD-L1单抗等可通过减少IL-6、IL-10等途径来对抗肿瘤组织的免疫抑制作用,但应注意免疫卡控点抑制剂对机体自身免疫稳态维持的影响^[31-32]。

此外,肿瘤组织特征性的低氧环境诱导CXCL28等趋化因子增多,造成Treg和MDSC大量聚集^[33]。它们可分别通过分泌TGF- β 等细胞因子^[34]和表达精氨酸酶消耗L-Arg^[35],从而干扰T细胞活化。多西他赛化疗以清除MDSC^[36],以及通过基因改造使T细胞失去对TGF- β 的敏感性^[37],均是可能的解决办法。

2 安全性

TCR-T治疗中的毒副反应主要分为两种:(1)靶标毒性(on-target toxicity),指TCR-T攻击肿瘤的同时使表达靶抗原的健康正常组织受累。2009年,JOHNSON等^[6]分别以MART-1和gp100为靶点治疗了20例和16例黑色素瘤患者,尽管各自有30%和19%的患者获得客观缓解,但皮肤、眼、耳的正常黑色素细胞也受到攻击,导致了严重的皮肤、视力、听力损害。(2)脱靶毒性(off-target toxicity),是由于TCR-T

识别了与靶点具有高度相似性的其他抗原表位而造成表达该抗原的健康组织损伤。2013年,MORGAN等^[8]以MAGE-A3(KVAELVHFL)为靶点的试验中,TCR-T同时识别神经系统的MAGE-A12(KMAELVHFL)导致2人死亡。一系列不良事件提示人们:选择合适的肿瘤靶抗原是保证治疗安全有效的关键。

理想的肿瘤靶抗原应满足:(1)肿瘤特异性;(2)高免疫原性;(3)在肿瘤组织中高度表达^[40],但目前尚未找到符合该3条的靶点。图1总结了目前正在进行的临床试验中所采用的靶抗原(数据来源于ClinicalTrials.gov),图中可见以下3类靶抗原是当今的研究热点。

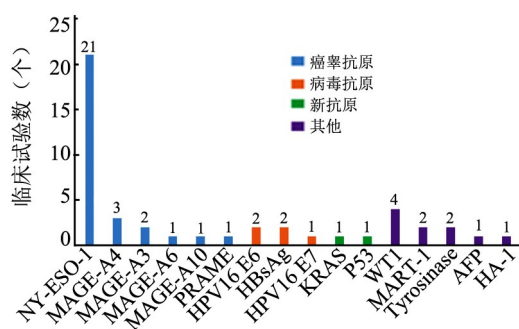


图1 目前进行的TCR-T临床试验的靶抗原
(数据来源于ClinicalTrials.gov)

2.1 癌靶抗原(cancer-testis antigen, CTA)

同时表达于肿瘤组织和正常组织的抗原被称为肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA), CTA是其中一类。针对TAA的T细胞大多经过胸腺的阴性选择,免疫原性低,且容易造成靶标毒性,因此不适合作为肿瘤抗原^[1]。但是CTA一般仅限于睾丸等生殖系组织,而这些组织不表达MHC分子,不会遭受MHC限制性的TCR-T攻击,大大降低了可能的毒性反应^[9]。此外,CTA在多种肿瘤中均有不同频率的表达^[41],其免疫原性可以通过突变互补决定区(complementarity-determining region, CDR)^[12]等方法改善。NY-ESO-1是当前研究最多的靶抗原(图1),它在10%~50%的转移性黑色素瘤、肺癌、乳腺癌^[42-45]以及70%~80%的滑膜肉瘤^[9]中稳定存在,且只分布于睾丸,其临床安全性已经得到证实^[9,12]。MAGE-A4^[11,46]、PRAME^[47]等CTA也在研究中。值得注意的是,不是所有的CTA都仅限于生殖系组织,而目前的手段并不能完全排除特定蛋白在所有重要组织中的表达,因此CTA作为靶点还需谨慎对待,寻找肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigen, TSA)是避免靶标毒性的根本方法^[1]。

2.2 病毒编码的抗原(oncoviral antigen)

参与肿瘤发生的病毒往往会导致该病毒特异性的蛋白在肿瘤细胞表面表达,而正常组织中不存在该抗原。另外,这些病毒蛋白通常对肿瘤的发生发展起到一定作用,因此多为组成性表达,其肿瘤特异性、免疫原性、特定肿瘤与患者人群中的表达频率都较高,是理想的TCR-T治疗靶点^[1]。HPV16型与子宫颈癌、阴道癌、外阴癌等多种癌症相关,实验表明其E6、E7蛋白能被自然提呈于细胞表面,具有很好的前景^[48]。目前已有针对HPV16 E6、E7蛋白的TCR-T临床试验开展(图1)。然而病毒相关的肿瘤仅占12%^[49],另外超过80%的肿瘤仍需寻找相应的TSA。

2.3 新抗原(neoantigen)

新抗原是体细胞基因突变所产生的异常蛋白,是除病毒编码的抗原以外的另一种TSA^[50]。基因突

变在肿瘤细胞中广泛存在,现认为可分为两种:一是驱动突变(driver mutation),它往往导致细胞增殖信号通路的异常,与肿瘤发生密切相关;二是随机突变(random mutation),这类突变的产物非肿瘤所必需,肿瘤可以通过下调这类突变实现免疫逃逸,因此目前多提倡以驱动突变作为靶点^[50]。KRAS G12V、G12D是胰腺癌(60%~70%)、结直肠癌(20%~30%)的常见驱动突变^[51],其肿瘤特异性好、免疫原性强、人群中表达频率高,WARRWN等^[52]经Meta分析认为它们是最理想的靶点。但是研究^[1]发现,这类抗原很少被自然提呈,且筛选新抗原表位的技术尚不太成熟,有待进一步发展。

上述3类抗原的特点比较见表2,目前正在进行的临床试验靶抗原见图1。

表2 癌率抗原、病毒编码抗原、新抗原的特点比较

| 特 点 | 癌率抗原 | 病毒编码抗原 | 新抗原 |
|----------|---------|-----------|----------|
| 肿瘤特异性 | 较好 | 好 | 好 |
| 免疫原性 | 弱 | 强 | 强 |
| 肿瘤的表达频率* | 较高 | 较高 | 差异大 |
| 现存问题 | 潜在的靶标毒性 | 只能覆盖小部分肿瘤 | 筛选技术不太成熟 |

*引自文献^[1]

3 持久性

TCR-T在回输前必须经过反复扩增,达到一定数量才能产生临床效应。但在这一过程中,T细胞也不可避免地向终末细胞分化^[53],导致其在患者体内难以产生持久的免疫应答^[3]。目前开展的临床试验多采用IL-2⁺非清髓性化疗的方法,以清除体内抑制性的Treg细胞,有利于回输的TCR-T受IL-7、IL-15等稳态因子(homeostatic cytokines)调控增殖,同时给予回输的T细胞更多空间生长,从而获得持续的疗效。所以,选择合适的T细胞亚群也是维持T细胞活力的重要方法^[18]。

根据分化程度由低到高可将T细胞分为初始T细胞(naïve T cell, T_N)、中央记忆T细胞(central memory T cell, T_{CM})、效应记忆T细胞(effector memory T cell, T_{EM})和效应T细胞(effector T cell, T_{EFF})^[54]。其中,T_N、T_{CM}表达归巢受体CD62L和CCR7,定位于次级淋巴器官,寿命长,增殖能力强,易移植;T_{EM}、T_{EFF}低表达CD62L和CCR7,定位于外周组织,是免疫应答作用的主要承担者,属于终末分化的细胞,寿命相对短,增殖和移植能力有限^[55-60]。针对TIL临床试验的回顾性研究^[54]发现,使用混合成分的TIL

比单一T_{EFF}成分的TIL疗效更佳,提示分化程度较低、寿命较长的T细胞抗肿瘤作用更强。动物实验^[61]进一步验证了低分化的T_N、T_{CM}在体内的扩增、抑瘤能力和持久性高于终末分化T细胞的推测。这类细胞已经受到了肿瘤领域的广泛关注。

近几年研究发现,还存在一群独特的T细胞——记忆性干细胞样T细胞(stem cell memory T cell, T_{SCM})。T_{SCM}的分化介于T_N与T_{CM}之间,并具有干细胞特征:在表面标志物上,T_{SCM}既表达T_N的CD45RA,又表达记忆性T细胞的CD95、CCR7和CD62L等^[62];在功能上,T_{SCM}既具有干细胞的强自我更新能力和多向分化潜能,又可以像记忆细胞一样对再次遇到的抗原刺激迅速做出免疫应答^[53];在基因表达谱上,T_{SCM}符合T_N到T_{EFF}的细胞分化线性模型,并介于T_N与T_{CM}之间,与T_{CM}最为接近^[63]。T_{SCM}比其他亚群的扩增和存活能力更好^[53],经体外培养并回输后,在人体中可以持续存活并保持细胞活性长达12年^[64];同时,T_{SCM}可以产生所有的记忆T细胞亚群,其介导的肿瘤消退也显著强于T_{CM}和T_{EM}^[54]。T_{SCM}的这些特点使其迅速成为目前的研究热点^[53]。

然而,目前的TCR-T大多是从未经亚群分选、以T_{EM}和T_{EFF}为主的外周血单个核细胞(peripheral

blood mononuclear cell, PBMC)为材料制备的^[65],难以展开以T_{SCM}为来源的靶向修饰,其中一个重要原因是T_{SCM}体外形成和维持条件的不成熟。2016年,SABATINO等^[65]率先在体外培养出了临床级别的肿瘤靶向性T_{SCM},他们使用CD3/CD28共刺激信号联合IL-7、IL-21以及Wnt通路激动剂TWS119诱导T_N分化产生。其中IL-7是细胞发展的必要条件,IL-21通过激活STATA3信号通路以及活化转录因子TCF7和LEF1从而激活Wnt-β-catenin通路,比其他方案中所采用的IL-15^[61]更能限制T细胞分化,TWS119协同并加强了IL-21的作用。这种方法所产生的T_{SCM}与自然发生的T_{SCM}在表型、功能和基因表达方面完全等同,由其分化而来的T_{EM}、T_{EFF}也展现出了比传统培养出的T_{EM}、T_{EFF}更强的肿瘤杀伤作用。此外,KLEBANOFF等^[57]发现,T_{CM}、T_{EM}与T_N共培养时,会表达FasL,通过非凋亡性的FAS信号通路激活下游AKT通路和核糖体S6蛋白,从而促进T_N的分化,导致T_{EM}堆积,提示培养时应事先将T_N分离,单独进行体外扩增以维持细胞表型。

4 结 语

TCR-T的独特优越性在于能够靶向肿瘤特异性的胞内抗原,从而最大程度避免对其他健康组织的损害,同时也为靶点的多样化提供了基础。基于新抗原的肿瘤个体化细胞免疫治疗是未来的发展方向,但目前它的成本和培养时间仍需进一步压缩^[66]。各种针对免疫抑制微环境的方法层出不穷,但它们能否真正运用于临床还有待时间的检验。另外,CD4⁺的TCR-T逐渐进入人们的视野^[10],期待其所介导的多克隆免疫激活可以打破免疫耐受,带来更广泛的免疫反应。T_{SCM}等低分化T细胞亚群的深入研究与利用也是保障有效、持久应答的关键。总之,肿瘤免疫治疗的年代已经来临,挑战与机遇并存。相信TCR-T未来在治疗的杀伤性、安全性和持久性方面会不断有突破,最终会真正走入临床,成为治疗恶性肿瘤的希望。

[参 考 文 献]

- [1] HINRICHS C S, RESTIFO N P. Reassessing target antigens for adoptive T-cell therapy[J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(11): 999-1008. DOI: 10.1038/nbt.2725.
- [2] DUDLEY M E, WUNDERLICH J R, ROBBINS P F, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes[J]. *Science*, 2002, 298(5594): 850-854. DOI: 10.1126/science.1076514.
- [3] JOHNSON L A, JUNE C H. Driving gene-engineered T cell immunotherapy of cancer[J]. *Cell Res*, 2017, 27(1): 38-58. DOI: 10.1038/cr.2016.154.
- [4] 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. DOI: 10.1126/science.1129003.
- [5] HU Z, OTT P A, WU C J. Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(3): 168-182. DOI: 10.1038/nri.2017.131.
- [6] 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. DOI: 10.1182/blood-2009-03-211714.
- [7] LINETTE G P, STADTMAUER E A, MAUS M V, et al. Cardiovascular toxicity and titin cross-reactivity of affinity-enhanced T cells in myeloma and melanoma[J]. *Blood*, 2013, 122(6): 863-871. DOI: 10.1182/blood-2013-03-490565.
- [8] 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. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3182829903.
- [9] 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. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2708.
- [10] LU Y C, PARKER L L, LU T, et al. Treatment of patients with metastatic cancer using a major histocompatibility complex class II-restricted T-cell receptor targeting the cancer germline antigen MAGE-A3[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(29): 3322-3329. DOI: 10.1200/jco.2017.74.5463.
- [11] 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. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1559.
- [12] 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. DOI: 10.1038/nm.3910.
- [13] ROSENBERG S A, SHERRY R M, MORTON K E, et al. Tumor progression can occur despite the induction of very high levels of self/tumor antigen-specific CD8⁺ T cells in patients with melanoma [J]. *J Immunol*, 2005, 175(9): 6169-6176. DOI: 10.4049/jimmunol.175.9.6169.
- [14] FESNAK A D, JUNE C H, LEVINE B L. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(9): 566-581. DOI: 10.1038/nrc.2016.97.
- [15] LIM W A, JUNE C H. The principles of engineering immune cells to treat cancer[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 724-740. DOI: 10.1016/j.cell.2017.01.016.
- [16] BINNEWIES M, ROBERTS E W, KERSTEN K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy[J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 541-550. DOI: 10.1038/s41591-018-0014-x.
- [17] 黄岚, 张毅. 肿瘤微环境中T细胞功能障碍及其逆转策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(11): 1247-1253. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.11.001.

- [18] VIGNALI D, KALLIKOURDIS M. Improving homing in T cell therapy[J/OL]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2017, 36: 107-116 [2018-03-08]. <http://sciencedirect.com/science/journal/13596101>. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2017.06.009.
- [19] DEBETS R, DONNADIEU E, CHOUAIB S, et al. TCR-engineered T cells to treat tumors: seeing but not touching?[J]. *Semin Immunol*, 2016, 28(1): 10-21. DOI:10.1016/j.smim.2016.03.002.
- [20] PENG D, KRYCZEK I, NAGARSHETH N, et al. Epigenetic silencing of TH1-type chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy[J]. *Nature*, 2015, 527(7577): 249-253. DOI: 10.1038/nature15520.
- [21] 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. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0351.
- [22] KERSHAW M H, WANG G, WESTWOOD J A, et al. Redirecting migration of T cells to chemokine secreted from tumors by genetic modification with CXCR2[J]. *Hum Gene Ther*, 2002, 13(16): 1971-1980. DOI: 10.1089/10430340260355374.
- [23] BUCKANOVICH R J, FACCIABENE A, KIM S, et al. Endothelin B receptor mediates the endothelial barrier to T cell homing to tumors and disables immune therapy[J]. *Nat Med*, 2008, 14(1): 28-36. DOI: 10.1038/nm1699.
- [24] FUKUMURA D, KLOPPER J, AMOOZGAR Z, et al. Enhancing cancer immunotherapy using antiangiogenics: opportunities and challenges[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(5): 325-340. DOI: 10.1038/nrclinonc.2018.29.
- [25] KIEDA C, EL HAFNY-RAHBI B, COLLET G, et al. Stable tumor vessel normalization with pO₂ increase and endothelial PTEN activation by inositol trispyrophosphate brings novel tumor treatment [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91(7): 883-899. DOI:10.1007/s00109-013-0992-6.
- [26] CARUANA I, SAVOLDO B, HOYOS V, et al. Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirectioned T lymphocytes[J]. *Nat Med*, 2015, 21(5): 524-529. DOI: 10.1038/nm.3833.
- [27] SUN C, MEZZADRA R, SCHUMACHER T N. Regulation and function of the PD-L1 checkpoint[J]. *Immunity*, 2018, 48(3): 434-452. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.03.014.
- [28] MOTZ G T, COUKOS G. Deciphering and reversing tumor immune suppression[J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 61-73. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.005.
- [29] SHEN M, WANG J, YU W, et al. A novel MDSC-induced PD-1(-) PD-L1(+) B-cell subset in breast tumor microenvironment possesses immuno-suppressive properties[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(4): e1413520[2018-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/issues/309966/>. DOI: 10.1080/2162402x.2017.1413520.
- [30] LI J, LEE Y, LI Y, et al. Co-inhibitory molecule B7 superfamily member 1 expressed by tumor-infiltrating myeloid cells induces dysfunction of anti-tumor CD8(+) T cells[J/OL]. *Immunity*, 2018, 48(4): 773-786.e5[2018-03-08]. <https://www.sciencedirect.com/science/journal/10747613>. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.03.018.
- [31] NOMAN M Z, DESANTIS G, JANJI B, et al. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(5): 781-790. DOI: 10.1084/jem.20131916.
- [32] TAUBE J M, GALON J, SHOLL L M, et al. Implications of the tumor immune microenvironment for staging and therapeutics[J]. *Mod Pathol*, 2018, 31(2): 214-234. DOI: 10.1038/modpathol.2017.156.
- [33] FACCIABENE A, PENG X, HAGEMANN I S, et al. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and T(reg) cells[J]. *Nature*, 2011, 475(7355): 226-230. DOI: 10.1038/nature10169.
- [34] HASMIM M, NOMAN M Z, MESSAI Y, et al. Cutting edge: hypoxia-induced nanog favors the intratumoral infiltration of regulatory T cells and macrophages via direct regulation of TGF- β 1[J]. *J Immunol*, 2013, 191(12): 5802-5806. DOI: 10.4049/jimmunol.1302140.
- [35] GEIGER R, RIECKMANN J C, WOLF T, et al. L-arginine modulates T cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity[J/OL]. *Cell*, 2016, 167(3): 829-842. e13[2018-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5075284/>. DOI: 10.1016/j.cell.2016.09.031.
- [36] KODUMUDI K N, WEBER A, SARNAIK A A, et al. Blockade of myeloid-derived suppressor cells after induction of lymphopenia improves adoptive T cell therapy in a murine model of melanoma [J]. *J Immunol*, 2012, 189(11): 5147-5154. DOI: 10.4049/jimmunol.1200274.
- [37] COLAK S, TEN DIJKE P. Targeting TGF- β signaling in cancer [J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(1): 56-71. DOI: 10.1016/j.trecan.2016.11.008.
- [38] 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. DOI: 10.1038/mt.2010.272.
- [39] 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. DOI: 10.1182/blood-2017-06-791202.
- [40] SUN Z, CHEN F, MENG F, et al. MHC class II restricted neoantigen: a promising target in tumor immunotherapy[J/OL]. *Cancer Lett*, 2017, 392: 17-25[2018-03-08]. [https://www.cancerletters.info/article/S0304-3835\(17\)30022-8/pdf](https://www.cancerletters.info/article/S0304-3835(17)30022-8/pdf). DOI: 10.1016/j.canlet.2016.12.039.
- [41] LI Y, LI J, WANG Y, et al. Roles of cancer/testis antigens (CTAs) in breast cancer[J/OL]. *Cancer Lett*, 2017, 399: 64-73[2018-03-08]. [https://www.cancerletters.info/article/S0304-3835\(17\)30148-9/full-text](https://www.cancerletters.info/article/S0304-3835(17)30148-9/full-text). DOI: 10.1016/j.canlet.2017.02.031.
- [42] CHEN Y T, SCANLAN M J, SAHIN U, et al. A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(5): 1914-1918. DOI: 10.1073/pnas.94.5.1914.
- [43] GIAVINA-BIANCHI M, GIAVINA-BIANCHI P, SOTTO M N, et al. Increased NY-ESO-1 expression and reduced infiltrating CD3⁺ T cells in cutaneous melanoma[J/OL]. *J Immunol Res*, 2015, 2015: 761378[2018-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4411457/>. DOI: 10.1155/2015/761378.
- [44] FARAMARZI S, GHAFOURI-FARD S. Melanoma: a prototype of cancer-testis antigen-expressing malignancies[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(13): 1103-1113. DOI: 10.2217/imt-2017-0091.

- [45] OSHIMA Y, SHIMADA H, YAJIMA S, et al. NY-ESO-1 autoantibody as a tumor-specific biomarker for esophageal cancer: screening in 1969 patients with various cancers[J]. *J Gastroenterol*, 2016, 51(1): 30-34. DOI: 10.1007/s00535-015-1078-8.
- [46] SCHOOTEN E, DI MAGGIO A, VAN BERGEN EN HENEGOUWEN P M P, et al. MAGE-A antigens as targets for cancer immunotherapy[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 67: 54-62. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305-7372\(18\)30053-7](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305-7372(18)30053-7). DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.04.009.
- [47] PANKOV D, SJOSTROM L, KALIDINDI T, et al. In vivo immunotargeting of an extracellular epitope of membrane bound preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME)[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 65917-65931[2018-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5630382/>. DOI: 10.18632/oncotarget.19579.
- [48] DRAPER L M, KWONG M L, GROS A, et al. Targeting of HPV-16⁺ epithelial cancer cells by TCR gene engineered T cells directed against E6[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(19): 4431-4439. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3341.
- [49] MESRI E A, FEITELSON M A, MUNGER K. Human viral oncogenesis: a cancer hallmarks analysis[J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 15(3): 266-282. DOI: 10.1016/j.chom.2014.02.011.
- [50] ROSENBERG S A, RESTIFO N P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 62-68. DOI: 10.1126/science.aaa4967.
- [51] WANG Q J, YU Z, GRIFFITH K, et al. Identification of T-cell receptors targeting KRAS-mutated human tumors[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(3): 204-214. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0188.
- [52] WARREN R L, HOLT R A. A census of predicted mutational epitopes suitable for immunologic cancer control[J]. *Hum Immunol*, 2010, 71(3): 245-254. DOI: 10.1016/j.humimm.2009.12.007.
- [53] GATTINONI L, SPEISER D E, LICHTERFELD M, et al. T memory stem cells in health and disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(1): 49-59. DOI: 10.1038/nm.4233.
- [54] KLEBANOFF C A, GATTINONI L, RESTIFO N P. Sorting through subsets: which T-cell populations mediate highly effective adoptive immunotherapy?[J]. *J Immunother*, 2012, 35(9): 651-660. DOI: 10.1097/CJI.0b013e31827806e6.
- [55] ROBERTO A, CASTAGNA L, ZANON V, et al. Role of naive-derived T memory stem cells in T-cell reconstitution following allogeneic transplantation[J]. *Blood*, 2015, 125(18): 2855-2864. DOI: 10.1182/blood-2014-11-608406.
- [56] JUNG Y W, KIM H G, PERRY C J, et al. CCR7 expression alters memory CD8 T-cell homeostasis by regulating occupancy in IL-7- and IL-15-dependent niches[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(29): 8278-8283. DOI: 10.1073/pnas.1602899113.
- [57] KLEBANOFF C A, SCOTT C D, LEONARDI A J, et al. Memory T cell-driven differentiation of naive cells impairs adoptive immunotherapy[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(1): 318-334. DOI: 10.1172/JCI81217.
- [58] GERRITSEN B, PANDIT A. The memory of a killer T cell: models of CD8(+) T cell differentiation[J]. *Immunol Cell Biol*, 2016, 94(3): 236-241. DOI: 10.1038/icb.2015.118.
- [59] WANG X, WONG C W, URAK R, et al. Comparison of naive and central memory derived CD8(+) effector cell engraftment fitness and function following adoptive transfer[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(1): e1072671[2018-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4760301/>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1072671.
- [60] SCHMUECK-HENNERESSE M, SHARAF R, VOGT K, et al. Peripheral blood-derived virus-specific memory stem T cells mature to functional effector memory subsets with self-renewal potency[J]. *J Immunol*, 2015, 194(11): 5559-5567. DOI: 10.4049/jimmunol.1402090.
- [61] SOMMERMEYER D, HUDECEK M, KOSASIH P L, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8⁺ and CD4⁺ subsets confer superior antitumor reactivity in vivo[J]. *Leukemia*, 2015, 30(2): 492-500. DOI: 10.1038/leu.2015.247.
- [62] 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. DOI: 10.1038/nm.2446.
- [63] KAMBAYASHI T, ASSARSSON E, LUKACHER A E, et al. Memory CD8⁺ T cells provide an early source of IFN-gamma[J]. *J Immunol*, 2003, 170(5): 2399-2408.
- [64] BIASCO L, SCALA S, BASSO RICCI L, et al. In vivo tracking of T cells in humans unveils decade-long survival and activity of genetically modified T memory stem cells[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(273): 273ra213[2018-03-08]. <https://stm.sciencemag.org/content/7/273/273ra13.short>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3010314.
- [65] SABATINO M, HU J, SOMMARIVA M, et al. Generation of clinical-grade CD19-specific CAR-modified CD8⁺ memory stem cells for the treatment of human B-cell malignancies[J]. *Blood*, 2016, 128(4): 519-528. DOI: 10.1182/blood-2015-11-683847.
- [66] GARBER K. Driving T-cell immunotherapy to solid tumors[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(3): 215-219. DOI: 10.1038/nbt.4090.

[收稿日期] 2018-05-10

[修回日期] 2018-05-28

[本文编辑] 党瑞山