

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.09.014

· 综述 ·

GPC3在实体瘤中免疫靶向治疗的基础研究及其临床转化

Basic research and clinical transformation of GPC3-targeted immune-targeted therapy for solid tumors

王文秀 综述; 吴昌平, 蒋敬庭 审阅(苏州大学附属第三医院 肿瘤生物诊疗中心 细胞治疗研究院, 江苏 常州 213003)

[摘要] 磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(glypican-3, GPC3)是一种锚定在细胞膜上的硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)蛋白多糖的家族成员之一。GPC3激活经典的Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)途径在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表现出促癌基因的作用。尽管GPC3在胎肝中含量丰富,在多种实体肿瘤中高表达,然而在成人正常组织中含量极少。选择靶点是肿瘤免疫治疗的关键。迄今为止靶向GPC3的MRI、PET和近红外成像已被用于早期HCC检测。针对GPC3⁺实体瘤也已经开发了各种免疫治疗方案,一种是基于抗GPC3抗体包括单克隆抗体、多肽疫苗、免疫毒素、双特异性抗体等,一种是靶向GPC3的CAR-T/NK疗法,其中部分已进入I/II期临床试验。靶向GPC3有可能为实体瘤治疗提供新的工具。本文概述GPC3的结构、功能等生物学特性,介绍基于抗GPC3抗体、CAR-T细胞开发的新策略,提供GPC3免疫疗法靶向实体瘤的证据。

[关键词] 磷脂酰肌醇蛋白聚糖3; 实体瘤; 靶向治疗; 基础研究; 临床转化; 生物标志物

[中图分类号] R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)09-1019-07

GPC3基因位于染色体Xq26上,主要编码具有580个氨基酸的70 000 Da前体核心蛋白,也被称为DGSX、GTR2-2、MXR7、OCI-5等,并检测到3种可变剪接形式^[1]。该蛋白可被切割为40 000 Da的N末端蛋白和可被单克隆抗体识别的C端蛋白。GPC3在多种实体肿瘤中高表达,而在成人正常组织中含量极少,因此有望成为多种实体瘤的治疗靶点。CAR技术在临床免疫疗法取得了重大的进展^[2-3],然而其在大多数实体瘤中收效甚微,原因包括靶抗原异质性、CAR-T细胞归巢能力弱、微环境的免疫抑制作用等^[4]。基于此开发了多种增强GPC3-CAR的特异性和安全性的新策略:构建“双抗原”CAR-T、引入自杀基因、敲除PD-1的CAR-T细胞等,抗GPC3抗体疗法也进入I/II期临床试验^[5]。因此GPC3免疫治疗为靶向实体瘤提供了新方法,探索GPC3免疫疗法对精准医学的发展至关重要。因此本综述重点介绍基于抗GPC3抗体、CAR-T细胞开发的新策略,关注其作为实体瘤免疫治疗靶点的潜能,为GPC3免疫疗法靶向实体瘤提供参考。

1 GPC3蛋白生物学特性

磷脂酰肌醇蛋白聚糖(glypicans, GPC)是具有HS的蛋白多糖,通过糖基磷脂酰肌醇锚定在细胞膜表面。GPC家族在动物中保守,在生物发育过程中起重要作用,是调节细胞生长运动和分化多种信号分子的共同受体。到目前为止,在哺乳动物中鉴定出6

个GPC家族成员,其中GPC1/2/4/6是Dally直系同源,GPC3/5是果蝇Dlp的直系同源物;最近报道^[6]表明,GPC可能与肿瘤的发生发展有关。

1.1 GPC3蛋白表达谱

GPC3是胎儿蛋白质,在胎盘、胎肝、胎肺、胎肾及胚胎肿瘤如Wilms肿瘤中广泛表达^[6-7]。然而在大多数成人组织中GPC3的启动子DNA甲基化,只在肺、间皮、卵巢、乳腺上皮、子宫内膜中微量表达^[8-9]。DANIEL团队^[10]发现正常胃腺、肾小管和睾丸生殖细胞中GPC3染色为阳性。

GPC3在肿瘤组织中的表达具有差异性:在成纤维细胞瘤、非小细胞肺癌、睾丸和卵巢卵黄囊瘤、恶性

[基金项目] 国家重点研发资助项目(No. 2018YFC1313400); 国家科技支撑计划资助项目(No. 2015BAI12B12); 国家自然科学基金海外及港澳学者合作研究基金项目(No. 31729001); 国家自然科学基金资助项目(No. 31570877, 31570908, 31800745); 江苏省重点研发计划专项资金项目(No. BE2018645)。Project supported by the National Key R & D Program (No. 2018YFC1313400), the National Science and Technology Supporting Program (No. 2015BAI12B12), the Joint Research Fund for Overseas Chinese, Hong Kong and Macao Scholars (No. 31729001), the National Natural Science Foundation of China (No. 31570877, 31570908, 31800745), and the Key R&D Project of Science and Technology Department of Jiangsu Province (No. BE2018645)

[作者简介] 王文秀(1992-),女,博士生,主要从事肿瘤免疫治疗的研究, E-mail: wwxabin@126.com

[通信作者] 吴昌平(WU Changping, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤生物治疗和肿瘤免疫的研究, E-mail: wcpjtt@163.com

黑色素瘤、卵巢透明细胞癌(ovarian clear cell adenocarcinoma, OCCA)、特殊型胃癌(gastric carcinoma, GC)、ESCC、睾丸生殖细胞瘤、结肠癌、肾横纹肌样瘤中为高表达。然而在卵巢癌、胆管癌、GC和间皮瘤中表达下调,被认为是这些肿瘤的抑制基因^[11-12]。

GPC3蛋白在超过70% HCC中高表达^[13],与HCC患者不良预后有关^[14],是HCC有潜能的生物标志物、预后因子,有望成为多种实体瘤的治疗靶点。

1.2 GPC3蛋白信号调控

GPC3通过Wnt^[15]、Hh^[16]和成纤维细胞生长因子等通路调控细胞生长和凋亡。GPC3对Wnt信号的调节基于特定的细胞环境,在HCC中GPC3激活Wnt/ β -catenin表现出促癌基因作用^[17]。在小鼠乳腺癌细胞中,GPC3抑制经典Wnt信号(参与细胞增殖和存活),激活非经典Wnt信号(确定细胞的形态和迁移)^[18]。在HCC中,当HS链上6-O-硫酸化减少时,GPC3与Wnt、卷曲蛋白受体形成三联复合物,下游 β -catenin在胞质内聚集进而激活经典Wnt信号。

GPC3是Hh信号转导的有效抑制剂,GPC3功能缺失突变导致过度生长综合征,部分原因是Hh通路过度活化所致^[19]。GPC3不依赖其HS链与Shh和Ihh高亲和力结合,导致与Ptc竞争性结合Hh,GPC3作为负调节蛋白参与Hh信号通路^[20]。

2 GPC3作为特殊型GC的标志物

GC是一种具有多种流行病学和组织病理学特征的异质性疾病。BORRMANN等^[21]将GC分为息肉型、蕈伞型、溃疡型和浸润型。LAURÉN等^[22]根据腺体生长模式分为肠型、弥漫性或混合型。DODGE等^[23]将GC分为乳头状、管状、黏液状和印戒细胞型。然而迄今为止这些分类未能为患者提供相应的治疗策略,目前GC疗法不做组织病理和解剖等区分。

利用分子表型判断GC亚型可更好地理解其异质性,而HER2仍是GC唯一经过验证的预测生物标志物,迫切需要能指导临床决策的新型分类方法。研究^[24]发现,在肝样胃癌、透明细胞胃癌和分泌AFP胃癌特殊型胃癌中,GPC3阳性率分别为95%、84%和100%,且GPC3⁺GC淋巴结转移、肝转移率均显著高于GPC3⁻GC且预后不良。因而GPC3⁺GC被称为一类由肝样胃癌、透明细胞GC和分泌AFP的GC组成的特殊型GC。因此GPC3有望成为这种特定类型GC患者的靶点。在组织学上GPC3⁺GC以中分化管状型tub2是最常见,其次为实体低分化型、乳突状型和分化良好的管状型。

3 GPC3抗体抗实体瘤的研究及临床转化成果

目前抗GPC3抗体的免疫治疗方法包括单克隆抗体、光免疫疗法、重组免疫毒素、双特异性抗体和多肽疫苗等,其中单克隆抗体、疫苗、双特异性抗体等都已进入I或II期临床试验,为实体瘤抗GPC3免疫治疗提供了潜在的新方法。

3.1 GPC3抗体抗实体瘤的临床前研究

3.1.1 单克隆抗体 GPC3单克隆抗体诱导抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)抑制裸鼠体内肿瘤异种移植物的生长。NAKANO团队^[25]首次报道抗GPC3单抗GC33介导ADCC效应明显抑制裸鼠HCC的增长,并开始I期临床试验。人源化hYP7^[26]识别GPC3的C-lobe并抑制裸鼠HCC近50%生长,靶向GPC3的N-lobe人源化抗体HN3^[27]和靶向HS链^[28]的人源化抗体HN3和HS20分别在裸鼠中抑制近80%和67%的HCC生长。

3.1.2 重组免疫毒素 重组免疫毒素是指抗体内抗原结合域与细菌毒素(一般是假单胞菌外毒素PE38)融合,这些毒素通过修饰延伸因子抑制细胞蛋白质的合成,导致肿瘤细胞的凋亡。HN3和YP7与PE38融合的抗体片段在临床前研究中进行了评估:HN3-PE38免疫毒素以0.6 mg/kg剂量在裸鼠中抑制HCC异种移植生长^[29-30]。在5 mg/kg剂量下,HN3-mPE24在裸鼠中也具有良好的耐受性,并且显著诱导肿瘤消退,增加裸鼠HCC异种移植物的存活率^[31]。

3.1.3 多肽疫苗 GPC3多肽疫苗诱导疫苗特异性细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)发挥抗肿瘤效应。在主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)I类限制性GPC3多肽疫苗对HCC患者II临床试验^[32]后,开发MHC II类限制性GPC3衍生的长肽(GPC3-LPs)结合APC并诱导供体CD4⁺T细胞应答^[33]。为了增强疫苗的疗效,研究脂质体偶联GPC3衍生肽的抗肿瘤潜力,通过pGPC3偶联脂质体疫苗诱导特异性CD8⁺T细胞,抑制GPC3⁺HCC生长。输注GPC3偶联淋巴细胞诱导强大T细胞反应和GPC3特异性抗体,并有效抑制裸鼠HCC近70%生长^[34-35]。

3.1.4 光免疫疗法 光免疫疗法(photoimmunotherapy, PIT)使用mAb-光毒性酞菁染料IR700缀合物,其通过近红外光激活(near-infrared, NIR)并导致肿瘤细胞的坏死。研究^[36]表明,使用IR700-YP7和IR700-HN3的PIT可抑制裸鼠HCC近40%增长。

3.1.5 双特异性抗体 双特异性T细胞重定向抗体(bispecific T cell-redirecting antibody, TRAB):由共同的轻链和两条不同的重链组成,具有完全人源化IgG、完整Fc受体(FcRn)。研究^[37]发现,ERY974对

GPC3⁺多种实体瘤肿瘤(GC和肺鳞状细胞癌等)有体内抗肿瘤活性,并诱发局部肿瘤微环境炎症,对低免疫原性的肿瘤有效。最近 SANO 团队^[38]研究证实, ERY974 与紫杉醇和顺铂协同作用能更好消除 GC 和肺癌,比单独 ERY974 治疗更有效。目前对 ERY974 的研究已处于 I 期临床试验阶段(NCT02748837)。

双特异性 T 细胞衔接器(bispecific T cell engager,

BiTE)将 T 细胞 CD3 分子和肿瘤特异性分子的单链抗体(single-chain variable fragment, scFv)区融合,使 T 细胞重定向至肿瘤细胞。有研究^[39]将人源化抗 GPC3 单抗 9F2 的 scFv 与抗 CD3 抗体(OKT3)的 scFv 融合制备 GPC3/CD3 的 BiTE,在体内外有效地抑制 GPC3⁺HCC。见表 1。

表1 GPC3 抗体抗实体瘤的临床前研究

| 肿瘤类型 | 抗体 | 形式 | 临床反应 | 参考文献 |
|----------------------|---------|-------------|--------|---------|
| 肝癌 | HN3 | IgG1 | 肿瘤生长抑制 | [27] |
| 肝癌 | HS20 | IgG1 | 肿瘤生长抑制 | [28] |
| 肝癌 | hYP7 | IgG1 | 肿瘤生长抑制 | [26] |
| 肝癌 | GC33 | IgG1 | 肿瘤生长抑制 | [25] |
| 肝癌 | NA | 多肽疫苗 | 肿瘤生长抑制 | [33] |
| 肝癌 | NA | 多肽疫苗偶联脂质体 | 肿瘤生长抑制 | [34] |
| 肝癌 | HN3 | 免疫毒素 | 肿瘤消退 | [29-30] |
| 肝癌 | YP7 | 免疫毒素 | 肿瘤生长抑制 | [31] |
| 肝癌 | YP7/HN3 | 光免疫疗法 | 肿瘤生长抑制 | [36] |
| 肝癌 | 9F2 | BiTE | 肿瘤消退 | [39] |
| GPC3 ⁺ 肿瘤 | ERY974 | TRAB | 肿瘤消退 | [37] |
| GPC3 ⁺ 肿瘤 | ERY974 | TRAB+紫杉醇+顺铂 | 肿瘤消退 | [38] |

3.2 GPC3 抗体抗实体瘤的临床试验进展

3.2.1 单克隆抗体 GPC3 单克隆抗体 GC33 两个 I 期临床试验结果表明,其对晚期 HCC 患者的治疗是安全的,具有良好的耐受性^[40-41]。然而在随机 II 期临床试验中未显示出明显的临床益处,表明单独的抗 GPC3 单抗可能对患者的治疗效果有限^[42]。在与索拉非尼联合的 Ib 期研究中,也未发现 GPC3 单抗的临床受益^[43]。

3.2.2 多肽疫苗 GPC3 的多肽疫苗已被广泛研究, Yu 团队在 I 期临床试验^[44]中证实 GPC3 多肽疫苗在晚期 HCC 患者中的安全性,并观察到免疫应答和抗肿瘤效力。2016 年在 II 期临床试验^[32]中,发现 MHC I 类 GPC3 多肽疫苗在 GPC3⁺ HCC 患者术后接种,改善

了患者的 1 年无复发率,2/3 患者中诱导 CD4⁺ T 细胞应答,延长患者 3~5 年的存活时间。2017 年该团队在 I 期临床试验^[45]中证实了 GPC3 多肽疫苗在小儿实体瘤中的安全性和有效性, GPC3 疫苗接种后耐受性良好,在第二次完全缓解后预防小儿实体瘤尤其是肝母细胞瘤的复发,2 个月后肿瘤控制率为 66.7%。GPC3 肽疫苗也用于治疗 OCCA 患者,在 II 期临床试验中该疫苗诱发 15/24 例 GPC3 特异性 CTL 反应,3 例患者表现出部分反应^[46]。

3.2.3 双特异性抗体 人源化 TRAB 的 ERY974 国际多中心 I 期临床试验目前在美国和欧洲开展(NCT02748837),并计划用于胃癌、食道癌和其他 GPC3⁺肿瘤。见表 2。

表2 GPC3 抗体的临床试验成果

| 肿瘤类型 | 抗体 | 形式 | 阶段 | 状态 | 效果 | 参考文献 |
|---------|--------|-----------|----|----|-------------|---------|
| 肝癌 | GC33 | IgG1 | I | 完成 | 安全 | [40-41] |
| 肝癌 | GC33 | IgG1 | II | 完成 | 无临床受益 | [42] |
| 肝癌 | GC33 | IgG1+索拉非尼 | Ib | 完成 | 无临床受益 | [43] |
| 肝癌 | NA | 多肽疫苗 | I | 完成 | 安全 | [44] |
| 肝癌 | NA | 多肽疫苗 | II | 完成 | 1 年无复发率低 | [32] |
| 卵巢透明细胞癌 | NA | 多肽疫苗 | II | 完成 | 诱发特异 TIL 反应 | [46] |
| 小儿实体瘤 | NA | 多肽疫苗 | I | 完成 | 安全 | [45] |
| 实体瘤 | ERY974 | TRAB | I | 招募 | N/A | [46] |

4 GPC3-CAR 细胞抗实体瘤的临床转化成果

由于 CAR 技术在实体瘤中的效果较差, 目前已经开发多种策略增强 GPC3-CAR 的特异性和安全性: 构建“双抗原”CAR 减少脱靶效应, 引入自杀基因增加其安全性, 敲除 PD-1 减少微环境的免疫抑制作用。采用瘤内注射、联合肝动脉灌注化疗 (hepatic arterial infusion, TAI)、肝动脉化疗栓塞术 (transcatheter arterial chemembolization, TACE) 等临床试验改善 CAR-T 细胞的归巢和渗透性差等问题。目前, 以 GPC3 为靶点对 CAR-NK 细胞的研究仍处于起步阶段。

4.1 GPC3-CAR 抗实体瘤的临床前研究

4.1.1 GPC3-CAR-T GAO 等^[47]首次构建了靶向 GPC3 的 GC33-CAR-T 细胞有效诱导 HCC 消退, LI 团队^[48]随后证实, 该 CAR-T 有效杀伤肺鳞状细胞癌, 诱导肿瘤的消退。

考虑共刺激结构域的选择可能会影响 CAR-T 细胞的功效, 构建 CD28、41BB 或者 CD28-41BB 为共刺激分子的 GC33-CAR-T。研究^[49]发现, 尽管 CD28 诱导产生 Th2 细胞因子 (IL-4 和 IL-10), 但 4-1BB 诱导 Th1 因子 (IFN- γ 和 GM-CSF), 赋予 T 细胞更强的增殖潜力, 有效消除 HCC, 该疗法有望进一步用于 GPC3⁺ 实体瘤治疗的临床开发。

为加速 CAR-T 应用于实体瘤临床试验, 构建 HCC 患者 PDX 模型。研究^[50]发现, 靶向 GPC3 的 GC33-CAR-T 有效抑制多个患者 PDX 肿瘤且疗效不同, 该模型为 HCC 免疫治疗评估提供精确的临床前模型。

“双抗原”CAR-T 是近年开发的能更精准识别肿瘤细胞的技术, 可降低了脱靶效应的风险。CHEN 等^[51]构建 GPC3-CD3 ζ 和 ASGR1-CD28-41BB 双靶向 CAR-T 细胞, 对 GPC3⁺ ASGR1⁺HCC 发挥有效的抗肿瘤活性, 而对单抗原阳性 HCC 几乎没有效应, 在临床试验中避免产生致命的副作用。

为减少微环境中免疫抑制因子对 T 细胞的影响, 首次联合 28 ζ CAR-T 和 CRISPR 敲除 PD-1 用于 PD-L1⁺HCC 治疗中, 研究发现 PD-1 缺陷型 hu9F2-CAR-T 细胞对 HCC 的抗肿瘤效果增强, 具有更强的持久性^[52]。融合表达 PD-1-CH3 的 CAR-T 细胞 (GPC3-28Z-sPD1-T)^[53]分泌 sPD1 以阻断 PD-1/PD-L1 途径, 显著增加其抗 GPC3⁺HCC 活性。

为增加 CAR-T 细胞的安全性, 构建第四代 GPC3-CAR^[54]含有 3 个共刺激结构域 (CD27、CD28 和 4-1BB) 和 iCasp9 自杀基因, 该 CAR 在体外诱导 GPC3⁺ 细胞裂解, 经索拉非尼预处理靶细胞可改善 CAR-T 的细胞毒性。

4.1.2 GPC3-CAR-NK 靶向 GPC3 的自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞是在 NK 细胞内导入表达 GPC3 特异性 CAR 而产生的。NK 细胞移植时无需人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 匹配, 不会导致移植物抗宿主病; NK 细胞来源广泛, 加之体内存活时间较短, 避免了一些脱靶效应, 因此可能比 CAR-T 细胞更安全。越来越多的研究者开始关注 NK 细胞的肿瘤免疫治疗。研究^[55]发现, 靶向 GPC3 的 CAR-NK 细胞可抑制 90% GPC3⁺HCC 异种移植物的生长, CAR 修饰的原代 NK 细胞对 GPC3⁺ 肿瘤细胞也具有细胞毒性。见表 3。

表 3 CAR-GPC3-T/NK 的临床前研究

| 肿瘤类型 | 抗体 | 形式 | 临床反应 | 参考文献 |
|---------|----------------|------------------|--------|------|
| 肝癌 | GC33 | CAR-T | 肿瘤消退 | [47] |
| 肝癌 | GC33 | CAR-T | 肿瘤消退 | [49] |
| 肝癌 | 抗 GPC3/抗 ASGR1 | 双靶向 CAR-T | 肿瘤生长抑制 | [51] |
| 肝癌 | 抗 GPC3 | 分泌 sPD1 的 CAR-T | 肿瘤生长抑制 | [53] |
| 肝癌 | hu9F2 | 敲除 PD-1 的 CAR-T | 肿瘤生长抑制 | [52] |
| 肝癌 | 抗 GPC3 | 引入 iCasp9 四代 CAR | 肿瘤生长抑制 | [54] |
| 肝癌 | hu9F2 | CAR-NK | 肿瘤生长抑制 | [55] |
| 肝癌(PDX) | GC33 | CAR-T | 肿瘤生长抑制 | [50] |
| 肺鳞癌 | GC33 | CAR-T | 肿瘤消退 | [48] |

4.2 GPC3-CAR 抗实体瘤的临床试验进展

在 13 例中国 GPC3⁺HCC 患者的 I 期临床试验中证实 GPC3-CAR-T 细胞的安全性和有效性 (NCT02395250)^[56]。目前 GPC3-CAR-T 细胞分别采

用瘤内注射、联合 TAI、TACE 等不同治疗策略对 HCC、肺鳞状细胞癌、胰腺癌等实体瘤的其他几项临床试验正在进行。见表 4。

表4 GPC3-CAR-T的临床试验成果

| 肿瘤类型 | 联合其他疗法 | 时间 | 阶段 | 状态 | 效果 | 临床试验号 |
|-----------------|---------------------------------|---------|------|-----|-----|-------------|
| 肝癌 | 未联合 | 2015.03 | I | 完成 | 安全 | NCT02395250 |
| 肝癌 | 未联合 | 2015.06 | I/II | 完成 | 未知 | NCT02723942 |
| 肺鳞癌 | 联合化疗 | 2016.03 | I | 招募 | N/A | NCT02876978 |
| 肝癌 | 联合TAI | 2016.03 | I/II | 未知 | NA | NCT02715362 |
| 肝癌、胰腺癌、 结肠癌 | 抗GPC3/间皮素/ CEA-CAR未联合 | 2016.07 | I/II | 招募 | NA | NCT02959151 |
| 肝癌 | 未联合 | 2017.03 | 不适用 | 招募 | NA | NCT03146234 |
| 肝癌 | 未联合 | 2017.04 | I/II | 未知 | NA | NCT03130712 |
| 肝癌 | 联合TACE | 2017.06 | I/II | 未招募 | NA | NCT03084380 |
| 肝癌 | 未联合 | 2017.07 | I | 招募 | NA | NCT03198546 |
| B淋巴瘤、胰腺 癌、肝癌 | 抗GPC3/CD19/CEA/ BCMA-CAR联合化疗 | 2017.10 | 不适用 | 未招募 | NA | NCT03302403 |
| 儿童实体瘤 | 联合化疗 | 2018.12 | I | 招募 | NA | NCT02932956 |
| 肝癌 | 联合化疗 | 2019.03 | I | 招募 | NA | NCT02905188 |
| 肝癌 | 未联合 | 2019.04 | I | 未招募 | NA | NCT03884751 |

5 结 语

由于 GPC3 的裸抗体 GC33 和 HN3 等不足以彻底治疗实体肿瘤,进而开发重组免疫毒素、双特异性抗体等策略,然而这些策略是否可以诱导肿瘤完全消退仍有待确定。研究发现经抗 GPC3 抗体治疗后存活的细胞可能会下调 GPC3 表达而耐药,因而未来工作仍需进一步研究 GPC3 的表达调控。多数 GPC3 抗体(除 HN3 外)不直接抑制 HCC 生长,因此需进一步研究 GPC3 结构和功能的关系、探讨其致癌机制和开发更强效抑制肿瘤活性的新抗体。部分 HCC 患者血清中可溶性 GPC3 蛋白可轻度抑制 CAR-T 细胞的活性,因而优先设计靶向 C-端 GPC3 蛋白如 HS 链,而非靶向可溶性 N-末端 GPC3 的抗体。事实上可溶性 GPC3 是一种敏感的血清标记物,而血清 GPC3 生物学特性尚未明确,因而 GPC3 的 3D 结构以及其从肿瘤细胞脱落的分子机制研究也需关注。在 CAR-T 细胞的临床应用中,正常组织中低水平的靶抗原表达就有可能导致灾难性的副作用。尽管 GPC3 在成人正常组织中含量极少如脑、肝、呼吸系统、皮肤、肾脏、消化道和睾丸生殖细胞等, GPC3-CAR-T 在临床应用的安全性仍要引起重视。

GPC3 是肿瘤药物开发一个有吸引力的靶点选择,是改善肿瘤患者预后具有潜能的分子靶标。虽然靶向 GPC3 抗体疗法在实体瘤患者的临床益处中尚未得到证实,但研究人员正在积极研究开发其他靶向 GPC3⁺实体瘤治疗的新策略,如多靶点联合抑制肿瘤、针对不同作用机制进行药物开发。

[参 考 文 献]

- [1] HO M, KIM H. Glypican-3: A new target for cancer immunotherapy [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(3): 333-338. DOI: 10.1016/j.ejca.2010.10.024.
- [2] 武少贤, 夏建川, 蒋敬庭. CAR-T 细胞治疗实体肿瘤的新策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(9): 854-858. DOI: CNKI:SUN:ZLSW.0.2018-09-002
- [3] 吴晨, 蒋敬庭. CAR-T 细胞免疫治疗肿瘤的毒副反应及临床对策 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(6): 745-750. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2016.06.002.
- [4] NEWICK K, O'BRIEN S, MOON E, et al. CAR-T cell therapy for solid tumors[J]. *Ann Rev Med*, 2017, 68: 139-152. DOI: 10.1146/annurev-med-062315-120245.
- [5] LI N, GAO W, ZHANG Y F, et al. Glypicans as cancer therapeutic targets[J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(11): 741-754. DOI: 10.1016/j.trecan.2018.09.004
- [6] BIBIANA V, IGLESIAS I G C, HECTOR P, et al. Expression pattern of glypican-3 -GPC3- during human embryonic and fetal development[J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23: 1333-1340. DOI: 10.1007/s00280-003-0619-7
- [7] TRETIAKOVA M, ZYNGER D L, LUAN C Y, et al. Glypican 3 overexpression in primary and metastatic Wilms tumors[J]. *Virchows Arch*, 2015, 466(1): 67-76. DOI: 10.1007/s00428-014-1669-4.
- [8] MAEDA D, OTA S, TAKAZAWA Y, et al. Glypican-3 expression in clear cell adenocarcinoma of the ovary[J]. *Mod Pathol*, 2009, 22(6): 824-832. DOI: 10.1038/modpathol.2009.40.
- [9] YAMAUCHI N, WATANABE A, HISHINUMA M, et al. The glypican 3 oncofetal protein is a promising diagnostic marker for hepatocellular carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2005, 18(12): 1591-1598. DOI: 10.1038/modpathol.3800436.
- [10] BAUMHOER D, TORNILLO L, STADLMANN S, et al. Glypican 3 expression in human nonneoplastic, preneoplastic, and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis of 4, 387 tissue samples[J]. *Am*

- J Clin Pathol, 2008, 129(6): 899-906. DOI: 10.1309 / HCQWP-WD50XHD2DW6.
- [11] MURTHY S S, SHEN T, DERIENZ O A, et al. Expression of GPC3, an X-linked recessive overgrowth gene, is silenced in malignant mesothelioma[J]. *Oncogene*, 2000, 19(3): 410-416. DOI: 10.1038 / sj.onc.1203322.
- [12] PETERS M G, FARÍAS E, COLOMBO L, et al. Inhibition of invasion and metastasis by glypican-3 in a syngeneic breast cancer model[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2003, 80(2): 221-232. DOI:10.1023/A:1024549729256.
- [13] KOMORI H, NAKATSURA T, SENJU S, et al. Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(9): 2689-2697. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-05-2267.
- [14] LI J, GAO J Z, DU J L, et al. Prognostic and clinicopathological significance of glypican-3 overexpression in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(20):6336-6344. DOI:10.3748/wjg.v20.i20.6336.
- [15] GAO W, KIM H, FENG M, et al. Inactivation of Wnt signaling by a human antibody that recognizes the heparan sulfate chains of glypican-3 for liver cancer therapy[J]. *Hepatology*, 2014, 60(2):576-587. DOI:10.1002/hep.26996.
- [15] GAO W, KIM H, FENG M Q, et al. Inactivation of Wnt signaling by a human antibody that recognizes the heparan sulfate chains of glypican-3 for liver cancer therapy[J/OL]. *Hepatology*, 2014, 60(2): 576-587[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4083010/>. DOI:10.1002/hep.26996.
- [16] FILMUS J, CAPURRO M. The role of glypicans in Hedgehog signaling[J]. *Matrix Biol*, 2014, 35: 248-252. DOI: 10.1016 / j. mat-bio.2013.12.007.
- [17] WEI G, MITCHELL H O. The role of glypican-3 in regulating Wnt in hepatocellular carcinomas [J]. *Cancer Rep*, 2011, 11(1):14-19.
- [18] STIGLIANO I, PURICELLI L, FILMUS J, et al. Glypican-3 regulates migration, adhesion and actin cytoskeleton organization in mammary tumor cells through Wnt signaling modulation[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 114(2): 251-262. DOI:10.1007/s10549-008-0009-2.
- [18] STIGLIANO I, PURICELLI L, FILMUS J, et al. Glypican-3 regulates migration, adhesion and actin cytoskeleton organization in mammary tumor cells through Wnt signaling modulation[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 114(2): 251-262. DOI: 10.1007 / s10549-008-0009-2.
- [19] CAPURRO M I, LI F C, FILMUS J. Overgrowth of a mouse model of Simpson-golabi-behmel syndrome is partly mediated by Indian hedgehog[J/OL]. *EMBO Rep*, 2009, 10(8): 901-907[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2726674/>. DOI: 10.1038/embor.2009.98.
- [20] CAPURRO M I, XU P, SHI W, et al. Glypican-3 inhibits Hedgehog signaling during development by competing with patched for Hedgehog binding[J]. *Dev Cell*, 2008, 14(5): 700-711. DOI: 10.1016/j.devcel.2008.03.006.
- [21] JOHANSEN A A. Early gastric cancer[M]//*Current Topics in Pathology*. Berlin, Heidelberg: SpringerBerlin Heidelberg, 1976: 1-47. DOI:10.1007/978-3-642-66481-6_1.
- [22] LAURENP. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification[J]. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1965, 64: 31-49.
- [23] DODGE O G. Histological typing of gastric and oesophageal tumours (international histological classification of tumours No. 18) [J]. *Br J Cancer*, 1979, 39(2): 210.DOI:10.1038/bjc.1979.39.
- [24] USHIKU T, UOZAKI H, SHINOZAKI A, et al. Glypican 3-expressing gastric carcinoma: distinct subgroup unifying hepatoid, clear-cell, and alpha-fetoprotein-producing gastric carcinomas[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(4): 626-632. DOI:10.1111/j.1349-7006.2009.01108.x.
- [25] NAKANO K, ORITA T, NEZU J, et al. Anti-glypican 3 antibodies cause ADCC against human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 378(2): 279-284. DOI:10.1016/j.bbrc.2008.11.033.
- [26] ZHANG Y F, HO M. Humanization of high-affinity antibodies targeting glypican-3 in hepatocellular carcinoma[J / OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33878[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5036187/>. DOI:10.1038/srep33878.
- [27] FENG M Q, GAO W, WANG R Q, et al. Therapeutically targeting glypican-3 via a conformation-specific single-domain antibody in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(12): E1083-E1091[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3607002/>. DOI:10.1073/pnas.1217868110.
- [28] WICHERT A, STEGE A, MIDORIKAWA Y, et al. Glypican-3 is involved in cellular protection against mitoxantrone in gastric carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 2004, 23(4): 945-955. DOI:10.1038/sj.onc.1207237.
- [29] GAO W, TANG Z W, ZHANG Y F, et al. Immunotoxin targeting glypican-3 regresses liver cancer via dual inhibition of Wnt signaling and protein synthesis[J / OL]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6536 [2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4357278/>. DOI:10.1038/ncomms7536.
- [30] FLEMING B D, HO M. Glypican-3 targeting immunotoxins for the treatment of liver cancer[J/OL]. *Toxins (Basel)*, 2016, 8(10): E274 [2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5086635/>. DOI:10.3390/toxins8100274.
- [31] WANG C G, GAO W, FENG MQ, et al. Construction of an immunotoxin, HN₃-mPE24, targeting glypican-3 for liver cancer therapy [J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(20): 32450-32460[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5464801/>. DOI:10.18632/oncotarget.10592.
- [32] SAWADA Y, YOSHIKAWA T, OFUJI K, et al. Phase II study of the GPC3-derived peptide vaccine as an adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma patients[J / OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(5): e1129483[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4910752/>. DOI:10.1080/2162402X.2015.1129483.
- [33] SAYEM M A, TOMITA Y, YUNO A, et al. Identification of glypican-3-derived long peptides activating both CD8⁺ and CD4⁺ T cells; prolonged overall survival in cancer patients with Th cell response [J / OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(1): e1062209[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4760284/>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1062209.
- [34] IWAMA T, UCHIDA T, SAWADA Y, et al. Vaccination with liposome-coupled glypican-3-derived epitope peptide stimulates cytotoxic T lymphocytes and inhibits GPC3-expressing tumor growth in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(1): 138-143.

- DOI:10.1016/j.bbrc.2015.11.084.
- [35] WU Q F, PI L Y, LE TRINH T, et al. A novel vaccine targeting glypican-3 as a treatment for hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(10): 2299-2308. DOI:10.1016/j.yymthe.2017.08.005.
- [36] HANAOKA H, NAGAYA T, SATO K, et al. Glypican-3 targeted human heavy chain antibody as a drug carrier for hepatocellular carcinoma therapy[J]. *Mol Pharm*, 2015, 12(6): 2151-2157. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.5b00132.
- [37] ISHIGURO T, SANJOY, KOMATSU S I, et al. An anti-glypican3 / CD3 bispecific T cell-redirecting antibody for treatment of solid tumors[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(410): eaal4291. DOI:10.1126/scitranslmed.aal4291.
- [38] SANO Y, AZUMA Y, TSUNENARI T, et al. Abstract 3653: Combining ERY974, a novel T cell-redirecting bispecific antibody targeting glypican-3, with chemotherapy profoundly improved antitumor efficacy over its monotherapy in xenograft model[C]//*Immunology, American Association for Cancer Research*, 2017. DOI: 10.1158/1538-7445.am2017-3653.
- [39] BI Y Y, JIANG H, WANG P, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with a GPC3-targeted bispecific T cell engager[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(32): 52866-52876[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5581077/>. DOI:10.18632/oncotarget.17905.
- [40] IKEDA M, OHKAWA S, OKUSAKA T, et al. Japanese phase I study of GC33, a humanized antibody against glypican-3 for advanced hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Cancer Sci*, 2014, 105(4): 455-462[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4317809/>. DOI:10.1111/cas.12368.
- [41] ZHU A X, GOLD P J, EL-KHOUEIRY A B, et al. First-in-man phase I study of GC33, a novel recombinant humanized antibody against glypican-3, in patients with advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(4): 920-928. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-12-2616.
- [42] YEN C, DANIELE B, KUDO M, et al. Randomized phase II trial of intravenous RO5137382/GC33 at 1600 mg every other week and placebo in previously treated patients with unresectable advanced hepatocellular carcinoma (HCC; NCT01507168)[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(15_suppl): 4102. DOI:10.1200/jco.2014.32.15_suppl.4102.
- [43] ABOU-ALFA G K, YEN C J, HSU C H, et al. Phase Ib study of co-drutuzumab in combination with sorafenib in patients with non-curable advanced hepatocellular carcinoma (HCC)[J/OL]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 79(2): 421-429[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5548107/>. DOI:10.1007/s00280-017-3241-9.
- [44] SAWADA Y, YOSHIKAWA T, NOBUOKA D, et al. Phase I trial of a glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma: immunologic evidence and potential for improving overall survival[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(13): 3686-3696. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3044.
- [45] TSUCHIYA N, HOSONO A, YOSHIKAWA T, et al. Phase I study of glypican-3-derived peptide vaccine therapy for patients with refractory pediatric solid tumors[J/OL]. *Oncimmunology*, 2017, 7(1): e1377872[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5739579/>. DOI:10.1080/2162402X.2017.1377872.
- [46] SUZUKI S, SAKATA J, UTSUMI F, et al. Efficacy of glypican-3-derived peptide vaccine therapy on the survival of patients with refractory ovarian clear cell carcinoma[J/OL]. *Oncimmunology*, 2016, 5(11): e1238542[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5139642/>. DOI:10.1080/2162402X.2016.1238542.
- [47] GAO H, LI K, TU H, et al. Development of T cells redirected to glypican-3 for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6418-6428.
- [48] LIKS, PANX R, BIY Y, et al. Adoptive immunotherapy using T lymphocytes redirected to glypican-3 for the treatment of lung squamous cell carcinoma[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(3): 2496-2507[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4823050/>. DOI:10.18632/oncotarget.6595.
- [49] LI W P, GUO L J, RATHI P, et al. Redirecting T cells to glypican-3 with 4-1BB Zetachimeric antigen receptors results in Th1 polarization and potent antitumor activity[J]. *Hum Gene Ther*, 2017, 28(5): 437-448. DOI:10.1089/hum.2016.025.
- [50] JIANG Z W, JIANG X F, CHEN S M, et al. Anti-GPC3-CAR T cells suppress the growth of tumor cells in patient-derived xenografts of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Front Immunol*, 2016, 7: 690[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5225101/>. DOI:10.3389/fimmu.2016.00690.
- [51] CHEN C, LI K S, JIANG H, et al. Development of T cells carrying two complementary chimeric antigen receptors against glypican-3 and asialoglycoprotein receptor 1 for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(4): 475-489. DOI:10.1007/s00262-016-1949-8.
- [52] GUO X L, JIANG H, SHI B Z, et al. Disruption of PD-1 enhanced the anti-tumor activity of chimeric antigen receptor T cells against hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1118[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6174208/>. DOI:10.3389/fphar.2018.01118.
- [53] PAN Z Y, DI S M, SHI B Z, et al. Increased antitumor activities of glypican-3-specific chimeric antigen receptor-modified T cells by coexpression of a soluble PD1-CH3 fusion protein[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(10): 1621-1634. DOI: 10.1007/s00262-018-2221-1.
- [54] TRINH T L, WU Q F, CHANG L, et al. Abstract 2316: GPC3-specific chimeric antigen receptor T cell in combination with Sorafenib as a novel therapeutic treatment for hepatocellular carcinoma[C]//*Immunology, American Association for Cancer Research*, 2016. DOI:10.1158/1538-7445.am2016-2316.
- [55] YU M, LUO H, FAN M L, et al. Development of GPC3-specific chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells for the treatment of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Mol Ther*, 2018, 26(2): 366-378[2019-05-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5835122/>. DOI:10.1016/j.yymthe.2017.12.012.
- [56] ZHAI B, SHI D H, GAO H P, et al. A phase I study of anti-GPC3 chimeric antigen receptor modified T cells (GPC3 CAR-T) in Chinese patients with refractory or relapsed GPC3⁺ hepatocellular carcinoma (r/r GPC3⁺ HCC)[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(15_suppl): 3049. DOI:10.1200/jco.2017.35.15_suppl.3049.

[收稿日期] 2019-06-02

[修回日期] 2019-07-08

[本文编辑] 王映红