



麦海强, 中山大学肿瘤防治中心, 院长助理, 教授、主任医师、博士生导师、鼻咽科主任、鼻咽科师生党总支书记。1998年硕士研究生毕业于原中山医科大学(七年制), 并继续在中山大学取得肿瘤学博士学位, 后于美国佛罗里达大学Shands癌症中心接受博士后训练。国家杰出青年基金获得者、国家高层次人才支持计划入选者、科技部中青年科技创新领军人才、中国肿瘤青年科学家、教育部新世纪优秀人才、广东省科技创新领军人才、广东省医学领军人才、美国MD Anderson癌症中心质子治疗中心学术委员会委员、中国抗癌协会鼻咽癌整合康复专业委员会主委、国家癌症中心鼻咽癌质控专家委员会副主任委员、中国抗癌协会鼻咽癌专业委员会委员、中国临床肿瘤协会(CSCO)鼻咽癌专家委员会常委、广东省临床医学学会鼻咽癌精准治疗专委会主任委员。主要研究方向为鼻咽癌的早期诊断、个体化综合治疗、疗效预测及预后研究, 主持国家杰出青年基金1项、国家重点研发计划课题子课题1项、广东省“特支计划”科技创新领军人才1项、国家自然科学基金青年/面上项目4项、广东省基础与应用基础研究基金重点项目1项、广州市科委重点项目1项、863项目子课题3项、广东省/广州市科技计划项目4项。以通讯(含共同)作者发表SCI论著100多篇, 包括高质量的医学及肿瘤学期刊如JAMA、Nat Med、Lancet Oncol、J Clin Oncol、J Natl Cancer Inst等。研究成果5项被NCCN、ASCO等国际指南采纳。担任《鼻咽癌诊断治疗》副主编, 参编学术论著6本。作为主要完成人之一获国家科技进步二等奖1项, 省部级科技奖4项, 中华医学会科技奖2项。

T淋巴细胞免疫治疗进展

李轶甫^{1,2} 孙雪松^{1,2} 麦海强^{1,2*}

(¹华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省鼻咽癌诊治研究重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060; ²中山大学肿瘤防治中心鼻咽癌科, 广州 510060)

摘要 作为肿瘤微环境的重要组成部分, T淋巴细胞在肿瘤的发生、发展中发挥着极其重要的作用, 被称为人体内的特种兵。但由于免疫逃逸机制的存在, 癌细胞通常会伪装自己, 让T细胞无法被识别出, 以此躲避人体免疫系统的攻击, 那么到底要如何唤醒体内的T细胞来歼灭癌细胞, 成为当下肿瘤研究的热点。在过去的几十年, 从基础研究到临床应用, 诞生了多种基于T淋巴细胞免疫反应的新型抗肿瘤治疗方法, 主要有以下三种类型: 细胞毒性T淋巴细胞治疗、嵌合抗原受体T细胞治疗以及T细胞受体工程化T细胞治疗。该文简要综述了这三种T细胞免疫治疗的机制、技术与临床应用。

关键词 免疫治疗; 细胞毒性T淋巴细胞; 嵌合抗原受体T细胞; T细胞受体工程化T细胞

Progress of T Lymphocyte Immunotherapy

LI Yifu^{1,2}, SUN Xuesong^{1,2}, MAI Haiqiang^{1,2*}

(¹State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Key Laboratory of Nasopharyngeal Carcinoma Diagnosis and Therapy, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China;

²Department of Nasopharyngeal Carcinoma, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

收稿日期: 2023-11-20 接受日期: 2023-12-06

*通讯作者。Tel: 020-87343643, E-mail: maihq@mail.sysu.edu.cn

Received: November 20, 2023 Accepted: December 6, 2023

*Corresponding author. Tel: +86-20-87343643, E-mail: maihq@mail.sysu.edu.cn

Abstract As an important component of the tumor microenvironment, T lymphocytes play an extremely important role in the occurrence and development of tumors. However, due to the existence of immune escape mechanisms, cancer cells often disguise themselves, making it difficult for T cells to recognize them, so that they can evade attacks from the human immune system. Therefore, how to awaken T cells in the body to eliminate cancer cells has become a hot topic nowadays. In the past few decades, various new anti-tumor treatment methods based on T lymphocyte immune response have emerged in the field of basic research and clinical application. There are mainly three types of T cell immunotherapy: cytotoxic T lymphocyte therapy, chimeric antigen receptor T cell therapy, and T-cell receptor engineered T cell therapy. This article briefly reviews the mechanisms, techniques, and clinical applications of these three types of T cell immunotherapy.

Keywords immunotherapy; cytotoxic T lymphocyte; chimeric antigen receptor T cell; T-cell receptor engineered T cell

恶性肿瘤目前被认为是医学界最难治愈的疾病类型之一,这取决于它不同于寻常疾病的特征。首先,肿瘤细胞拥有很多种不同类型的突变克隆,使利用药物进行针对性治疗更加困难。其次,即使完全清除某一种克隆型的肿瘤细胞,其他类型的优势克隆很快就会凸显出来。近年来,科学家提出利用自身免疫系统杀灭肿瘤的观点,使很多恶性肿瘤在治疗上看到了希望的曙光。T细胞是肿瘤微环境(tumor micro-environment, TME)的重要组成部分,在杀灭肿瘤的过程中发挥着必不可少的作用。当抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APC)获取肿瘤相关或肿瘤特异性抗原并对其加工后,APC通过主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)将抗原肽呈递给T细胞以产生免疫效应。T细胞在抗原呈递中获得足够激活信号,并通过趋化因子等方式浸润到肿瘤组织中,识别肿瘤抗原,最后产生抗肿瘤效应。然而,肿瘤相关性抗原免疫原性较弱,肿瘤所产生的特异性新抗原往往不能被T细胞识别,致使肿瘤发生免疫逃逸^[1]。因此,如何对T细胞进行改造,发挥T细胞免疫监视及清除的功能成为当下肿瘤研究的热点。目前,针对如何使T细胞准确地识别肿瘤抗原并持久地发挥免疫效应,研究者开发了以下三种T细胞疗法:细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)治疗、嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)治疗以及T细胞受体工程化T细胞(T cell receptor-gene engineered T cells, TCR-T)治疗。本文简要综述了这三种治疗方式的机制、技术与临床应用。

1 细胞毒性T淋巴细胞(CTL)

1.1 CTL作用机制

CTL是一群以细胞毒性为主要功能的CD8⁺T细胞。由于其特异性的抗肿瘤作用,目前越来越多的学者将目光聚焦在利用CTL进行肿瘤免疫治疗。目前认为,肿瘤细胞表面有CTL可识别的肿瘤抗原,这些抗原在经过APC处理后,可以以抗原肽-MHC的形式,与CTL表面的T细胞受体(T cell receptor, TCR)结合,诱导CTL发挥肿瘤杀灭作用^[2]。CTL介导的肿瘤细胞杀灭作用应包括多种机制,其中最主要的是CTL引发的细胞裂解作用。首先,CTL在通过TCR特异性地识别靶细胞表面的抗原后,释放穿孔素使得靶细胞膜上出现大量小孔,由于膜内外渗透压的存在使得靶细胞破裂死亡^[2]。其次,CTL通过释放颗粒酶,借助穿孔素产生的肿瘤细胞孔洞,穿越细胞膜后激活caspase级联反应,介导靶细胞凋亡。此外,CTL表达FasL与靶细胞表面的Fas分子结合,也可触发死亡受体信号逐级转导。最后,CTL分泌的IFN- γ 和TNF- α 在与肿瘤细胞的相应受体结合后,也可导致肿瘤细胞死亡。

1.2 CTL表位筛检及肿瘤抗原鉴定

在CTL杀灭肿瘤细胞的过程中,实现CTL表位的准确、敏感及快速筛检是其成功发挥作用的关键。随着生物信息学方法的井喷及机器学习的快速发展,基于生物信息学的CTL表位预测已成为目前最主流的预测手段^[3]。在利用生物信息学方法初步预测CTL表位后,还需要通过一系列实验对所预测的CTL表位进行进一步鉴定,从而筛选出抗肿瘤细胞活性的CTL优势表位。对于弱势表位首先将进行

适当修饰,随后再次测定其抗肿瘤活性。最终通过建立体外肿瘤模型或者小鼠肿瘤模型来检测抗肿瘤特异性CTL优势表位肽的免疫原性及杀伤性^[4-5]。

除CTL表位的筛检外,肿瘤相关抗原的鉴定,也是利用CTL进行抗肿瘤治疗的关键。黑色素瘤是最具免疫原性的肿瘤之一,因此利用黑色素瘤CTL表位肽的免疫应答进行抗肿瘤治疗的研究相对成熟,部分研究已经进入II、III期临床试验阶段。GLOGER等^[6]通过从5种黑色素瘤细胞系中分离出HLA-I类复合物,并通过质谱法对HLA肽段进行测序,鉴定了超过10 000种独特的肽以及250多个对应肿瘤相关抗原的表位。此外,研究人员还发现黑色素瘤细胞系和从2名黑色素瘤患者体内纯化的HLA复合物中的短肽之间存在显著重叠,揭示了细胞系和患者来源肿瘤组织中HLA肽组的相似性,对肿瘤排斥抗原的鉴定和免疫治疗策略的制定具有重要意义。此外,在头颈部肿瘤及宫颈癌领域也有相关研究,但目前大多仍处于实验室研究阶段。ALBERS等^[7]报道口咽癌和扁桃体癌患者中感染高危人类乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)亚型的占比分别为20%和50%。通过检测HPV-16⁺和HPV-16⁻头颈鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma of head and neck, SCCHN)患者以及健康人的CTL对HPV16的多肽表位所产生的特异性免疫反应的强度后,他们发现与其他两类人群相比,HPV-16⁺的SCCHN患者更能产生CTL特异性免疫应答。与之类似,SUSAN等^[8]对EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)相关的淋巴瘤患者,在其经过移植后,利用第三方健康供体提供的同种异体EBV特异性CTL进行细胞免疫治疗。结果显示,45例患者中有29例(64%)达到了完全缓解(complete response, CR)或持续部分缓解(partial response, PR),并未观察到显著毒性。这些临床结果为多种病毒相关性癌症提供了新的治疗方向。

1.3 CTL参与的过继性细胞疗法

过继细胞疗法(adoptive cell transfer therapy, ACT)的主要流程包括收集患者的淋巴细胞、体外选择、扩增和活化,最终将处理后的淋巴细胞输注回患者体内,以诱导免疫抗癌反应。最常用于ACT的细胞是外周血淋巴细胞或肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)。CTL通过发挥杀灭肿瘤细胞的作用,在ACT中至关重要。2014年,ERIC等^[9]通过全外显子测序证明在转移性胆管癌患

者的TIL中存在能够识别肿瘤细胞表达的ERBB2IP的突变的CD4⁺T型辅助T细胞。在通过扩增回输TIL后,患者获得了长期的肿瘤缓解。在近期的一项针对黑色素瘤的三期临床试验中,研究人员纳入168例患者,其中84例患者接受ACT细胞治疗,84例患者接受伊匹木单抗治疗。结果显示,接受ACT患者的中位无进展生存期(progression-free-survival, PFS)显著高于接受伊匹木单抗治疗的患者(7.2个月对比3.1个月)。在一项淋巴瘤的研究中,CATHERINE等^[10]使用自体树突状细胞扩增来自患者体内的CTL,用于自体回输治疗。结果显示,在29名高危复发的患者中,有28人在输注CTL后仍处于缓解状态,中位缓解时间为3.1年。此外,在2021年美国临床肿瘤学会上,研究者们公布了一项CTL联合特瑞普利单抗治疗晚期非小细胞肺癌的疗效观察研究。此研究纳入2019年6月—2020年10月收治的14例患者,前期结果显示,在13例可评估的患者中,客观缓解率(objective response rate, ORR)为38.4%,疾病控制率(disease control rate, DCR)为71.4%,该研究提示CTL细胞可以恢复患者抗肿瘤免疫力以改善预后。但我们需要注意的是,T细胞回输至患者体内后会面临衰竭和死亡等问题,进而影响T细胞提供持久的抗肿瘤免疫反应^[11]。2000年TOH等^[12]报道了CTL疗法在晚期和复发性食管癌中的毒性和治疗效果。该项试验纳入11例晚期或复发食管癌患者,将CTL注入原发肿瘤部位、转移性淋巴结、胸膜或腹水区域进行治疗。最终,只在5例(45.5%)中观察到了CTL细胞活性,其中1例CR,3例PR和1例疾病进展(progressive disease, PD),而在其余6例患者中未观察到CTL细胞活性(54.5%)。令人诧异的是,有研究发现,在从肠癌和卵巢癌分离出的淋巴细胞中,只有大约10%的CTL可以识别周围的癌细胞,其余都是与癌细胞无关的CTL。更意外的是,有2名患者的肿瘤组织样本中根本没有能识别癌细胞的CTL,尽管这两份组织样本中也充满了TIL^[13]。此外,CTL疗法的目标人群也需要进一步甄别。LIANG等^[14]对156名III~IVa期、血清EBV-DNA $\geq 4\ 000$ 拷贝数/mL接受了同期放化疗(concurrent chemoradiotherapy, CCRT)的鼻咽癌患者进行1:1随机,接受或不接受自体TIL回输治疗。结果表明,CCRT联合TIL回输组对比单纯CCRT组3年PFS无显著差异(75.6%对74.4%,危险比为1.08;95%置信区间为0.62~1.89)。探索性分析表明,在循环

CD8⁺TIM3⁺细胞、血清IL-8或PD-L1水平较低的患者中, TIL治疗具有潜在的生存益处。预后良好的患者表现出干扰素- γ 和一系列炎症相关基因的转录水平增加以及衰竭评分降低。因此, 识别CTL治疗可能受益的个体是未来研究的另一方向。由此得知, 通过体外扩增后回输的淋巴细胞有效识别肿瘤细胞的能力有待改善。在目前的临床试验中, 研究者正尝试通过嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)等人工干预技术, 赋予CTL更强的识别、对抗肿瘤的能力, 使其在过继细胞疗法中发挥更稳定、有效的作用, 我们在本文后续章节中将重点阐述。

2 嵌合抗原受体修饰T细胞(CAR-T)

2.1 CAR-T的结构原理及作用机制

CAR是通过基因工程合成的一种杂合受体, 由胞外段抗原结合域的抗体单链可变区(single-chain variable fragment, scFv)、铰链、跨膜结构域及胞内的信号结构域组成, 每一个结构域对CAR-T治疗都必不可少。铰链是连接胞外抗原结合域及跨膜域的重要结构, 使抗原结构域在空间上更加灵活, 以便克服空间位阻。铰链的长度及其组成的变化将会影响抗原结合、表位识别、信号转导等一系列生化过程, 恰当的铰链长度允许抗原结合域顺利进入目标表位结合并产生生物学效应^[15]。抗原结合域是CAR的胞外段, 其最经典的结构包含单克隆抗体轻链及重链的两个可变结构域, 它们通过甘氨酸-色氨酸3肽柔性连接肽连接成scFv^[16]。这个柔性连接肽利用甘氨酸使scFv在空间上更加灵活, 同时丝氨酸残基使得紧密折叠的scFv溶解性提高, 更易识别及结合癌细胞表面抗原发挥细胞毒效应。因此, CAR-T细胞不需要通过MHC途径也可以发挥细胞毒效应。

胞内信号结构域是CAR-T治疗发挥效应的重要部分, 在CAR-T相关研究中最受关注的, 胞内信号结构域的更新换代反映了整个CAR-T的研究历程。CAR至今共经历了4代变迁。第一代CAR诞生于20世纪90年代末, 其胞内信号结构域仅包含CD3或FcR信号结构域^[17]。尽管绝大多数CAR-T细胞通过依赖CD3来源的免疫受体酪氨酸激活模体发挥生物学效应, 但单一的CD3信号结构域似乎不足以发挥CAR-T强大的抗肿瘤效应, 临床上疗效甚微^[18]。为了解决免疫效应难以被CD3单信号结构域所激活的难题, 第二代CAR增加了1个共刺激结构域。最常

见的即为CD28和CD137共刺激结构域^[19-20], 并在血液系统恶性肿瘤中展现了强大的治疗效应, 在胶质母细胞瘤、晚期肉瘤、肝转移瘤等多种实体瘤中也有一定的疗效。在针对CD28和CD137的研究中发现, 不同的共刺激结构域对CAR-T细胞的生物学行为也有不同的影响。CD137会使CAR-T细胞线粒体产生增加、脂肪酸氧化水平增加、有氧代谢活性增强并使其向中央记忆T细胞分化。而CD28则会促进CAR-T细胞的糖酵解, 并使其向效应记忆T细胞分化^[21-22]。为了有效利用不同共刺激结构域的生物学效应, 第三代CAR将CD137和CD28同时结合在胞内段^[23], 以促进其向中枢记忆T细胞分化, 增强CAR-T细胞增殖能力, 提高抗肿瘤活性。第四代CAR-T在第三代的基础上, 利用基因工程的方法, 将识别靶抗原的单链体与间隔区、跨膜基序和T细胞活化基序等融为一体, 导入可诱导表达的*IL-12*基因, 使其获得CAR-T细胞与诱导型*IL-12*的双重抗癌活性。除了通过自分泌方式增强CAR-T细胞活化外, *IL-12*还能以旁分泌方式吸引并激活先天性免疫细胞, 再将重组基因转染至T细胞, 使其能够特异性杀伤靶细胞^[24]。

2.2 CAR-T的生产技术路线

CAR-T细胞产生的技术路线大致如下^[15]: (1) 提取患者外周血中的T细胞, 血液系统肿瘤需要剔除异常的T细胞; (2) T细胞体外激活; (3) 利用基因工程对T细胞进行CAR修饰; (4) 对修饰的T细胞进行验证及扩增; (5) CAR-T细胞回输。其中, 最重要的一步是如何对T细胞在体外进行CAR修饰。目前CAR-T细胞基因工程从最早的以逆转录病毒、腺病毒及腺相关病毒为主的病毒转染方法逐步升级换代到转座子、CRISPR/Cas9、质粒以及电穿孔、基因枪、纳米颗粒等非病毒转染方法, 实现更高的基因表达效率, 减少病毒转染导致的致癌等不良反应。

2.3 CAR-T的临床应用

2.3.1 血液系统恶性肿瘤 在CAR-T的临床应用方面, 目前, 美国食品药品监督管理局已批准5种CAR-T细胞上市。5个上市的CAR-T细胞均靶向B细胞表面标志物, 其中有4个靶向CD19, 1个靶向BCMA, 主要用于治疗复发或难治性血液系统恶性肿瘤, 包括: B细胞来源的淋巴瘤、白血病以及多发性骨髓瘤。美国一项纳入75例儿童及青壮年复发/难治性B细胞急性淋巴细胞白血病, 并使用Kymirah(一种CAR-T细胞疗法)治疗的多中心研究显示, 使用

Kymirah的CR率达60%。75例患者中55例患者(73%)发生了3~4级组织坏死相关不良反应, 35例(47%)入住重症监护室治疗^[25]。基于该研究, Kymirah成为首个美国食品药品监督管理局批准的CAR-T细胞疗法。随后多项针对复发/难治性大B细胞淋巴瘤、复发/难治性套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤的多中心研究结果发布, 展现了客观缓解率73%~93%, 完全缓解率53%~67%的良好疗效, 相应的CAR-T细胞也陆续被获批上市^[26-28]。对这些研究的长期随访发现, 部分患者在输注CAR-T细胞两年之后未接受任何巩固治疗, 仍然持续缓解。目前, 为了克服CAR-T细胞治疗中出现的抗原逃逸, 同时靶向CD19和CD20或CD19和CD22的多靶点CAR-T正在研究当中, 多项II期临床研究也正在进行。

CAR-T细胞的治疗优势在多发性骨髓瘤中也得到了体现。一项名为KarMMa的II期临床研究纳入了经蛋白酶体抑制剂、免疫调节剂及抗CD38抗体治疗均无效的复发/难治性多发性骨髓瘤患者, 并采用靶向多发性骨髓瘤细胞表面上的BCMA的CAR-T细胞治疗(Abecma)^[29]。研究结果显示, 128名患者中94名患者疾病缓解, ORR为73%, 42名患者达到CR, CR率为33%, PFS为8.8个月, 安全性良好。基于该研究的数据, 2021年Abecma获批用于复发/难治性多发性骨髓瘤的4线及以上治疗。然而, 部分患者CAR-T细胞治疗后会出现BCMA抗原逃逸现象, 这大大影响了CAR-T的治疗效果。针对上述问题, 目前主要通过双抗原或替换抗原结合域来的方式克服这一局限性。临床前研究发现配体APRIL可以同时结合骨髓瘤细胞表面的BCMA和CAML, 提高CAR-T细胞的效应^[30]。此外, 靶向其他抗原的CAR-T细胞, 如SLAMF7(NCT04499339)、GPCR5D(NCT05016778)目前也处于早期临床研究阶段。

2.3.2 实体瘤 目前CAR-T细胞治疗在实体瘤中尚处于起步阶段, 主要在脑胶质母细胞瘤中有一定的探索。在一项针对表达EGFRvIII的复发性脑胶质母细胞瘤患者的I期剂量爬坡临床研究中, 研究者使用靶向EGFRvIII的CAR-T细胞进行治疗, 结果显示中位PFS仅为1.3个月, 所有患者均未表现出肿瘤缓解^[31]。另一项针对CLDN6阳性的晚期实体瘤的CAR-T临床试验发现, 在同时输注CAR-T及CLDN6 RNA疫苗后, 21例可评估患者的ORR为33%, 其中有1例完全缓解, DCR为67%^[32]。最主要的不良反应为

细胞因子释放综合征, 所有的毒性均可治可控。该研究中CAR-T与肿瘤相关RNA疫苗的结合在晚期实体瘤当中体现了令人欣喜的疗效, 有待更大样本的临床研究进行验证。除此之外, 针对广泛晚期实体瘤的其他靶点也正待临床疗效验证。间皮素目前在多种难治性晚期实体瘤I期临床试验被选作CAR-T的靶点(NCT05848999、NCT05779917)。靶向糖蛋白MUC1的CAR-T目前也尝试应用于乳腺癌(NCT05812326)、肝内胆管癌(NCT03633773)、肺癌(NCT03198052)等。总之, CAR-T细胞在实体瘤中的应用仍是临床上的一大挑战, 有待进一步的探索。

2.4 CAR-T的治疗毒性及处理

在治疗毒性方面, 由于CAR-T细胞治疗会导致机体免疫细胞广泛的交叉激活, 同时释放大量的细胞因子, 从而会导致下列特征性的治疗毒性: (1) 细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS), 由于体内T细胞过度激活释放大量细胞因子, 患者通常表现为发烧、腹泻、肌肉痛, 严重者可表现为多器官系统衰竭、死亡; (2) 噬血细胞性淋巴组织细胞增生症, 主要表现为CRS合并血清铁蛋白升高、肾功能衰竭、肝酶升高、脾肿大、肺水肿等相关症状; (3) 免疫效应细胞相关神经毒性综合征, 常见表现为脑脊液细胞因子水平升高, 血脑屏障受损, 患者可出现意识模糊、头痛、认知障碍, 甚至出现脑水肿、昏迷或癫痫发作^[33]。针对上述问题, 基础研究目前正期望通过改进CAR胞外段的各模块结构, 使得CAR-T的激活阈值和激活强度适中, 这样既不影响肿瘤治疗, 也不导致过度的细胞因子释放。同时, 在实体瘤中以找到更为特异的肿瘤表面抗原, 降低正常组织的毒副作用。

值得令人关注的是, 美国食品药品监督管理局于2023年11月28日宣布所有靶向CD19或BCMA的CAR-T疗法都有继发T细胞恶性肿瘤的风险^[34], 目前已有19位患者在接受CAR-T疗法后继发了T细胞恶性肿瘤。CAR-T疗法继发T细胞恶性肿瘤的机制目前尚未被阐明, 可能与CAR的修饰导致T细胞过度增殖或病毒转染导致的基因组改变相关。鉴于CAR-T疗法在血液系统肿瘤中优异的疗效, 在尽快明确可能的致癌机制的同时, 应该正确看待CAR-T疗法所带来的总体益处和风险。

2.5 CAR-T治疗的未来展望

虽然, CAR-T在多种恶性肿瘤的治疗上均体现

出可喜的安全性和疗效,但正如前文所讲,仍有部分患者接受CAR-T细胞治疗后疗效不佳。目前,CAR-T治疗失败的最常见的原因是抗原逃逸,而抗原逃逸主要原因是由于基因组或转录组调节引起的抗原丢失。既往研究报道,7%~25%的病人在接受靶向CD19的CAR-T细胞后出现肿瘤复发,且复发肿瘤中CD19的表达量较前明显下降^[35]。针对复发病人的肿瘤进行DNA及RNA测序发现,复发肿瘤中CD19蛋白相关基因出现突变,从而导致CD19无功能或失去跨膜结构域,最终导致肿瘤出现抗原逃逸^[36]。在靶向BCMA的CAR-T细胞治疗多发性骨髓瘤的复发患者中,研究者也发现了BCMA单等位基因甚至是双等位基因缺失可导致BCMA表达缺失,最终导致CAR-T细胞治疗失败^[37]。目前这种抗原逃逸的问题主要期望通过靶向多个肿瘤特异性抗原的CAR-T细胞来解决,双靶点甚至多靶点的CAR-T细胞是未来主要的发展方向。综上,目前CAR-T细胞治疗在血液系统肿瘤中取得了令人可喜的疗效,在实体瘤治疗方面仍挑战重重,未来如何设计更高效、低毒、高选择性的CAR,如何克服肿瘤微环境中的免疫耗竭状态,如何使CAR-T浸润入肿瘤组织发挥细胞毒作用,仍有待探索。

3 T细胞受体工程化T细胞(TCR-T)

3.1 TCR-T的作用机制及制备技术

在上述的章节中,我们已经阐明了基于CAR-T的免疫疗法在血液肿瘤中取得令人满意的疗效,但我们关注到,其在实体肿瘤中的治疗价值仍然比较局限。基于既往研究,我们认为造成上述问题的原因与实体肿瘤在发生发展过程中的抗原丢失、CAR-T细胞的迁移受限、肿瘤异质性、抑制性微环境等有很大的关系^[38]。为解决CAR-T治疗实体肿瘤的局限性,TCR-T技术应运而生。与CAR-T不同,TCR-T在识别肿瘤抗原的过程中,依赖APC的抗原呈递作用,只有抗原经过APC细胞处理形成抗原-MHC分子复合物后,才能被TCR-T细胞所识别。但也正因如此,TCR-T可识别的抗原种类和分布较CAR-T更为丰富,包括所有能被APC处理为MHC复合物的HLA-I类、II类抗原,以及分布于细胞膜表面和细胞质内的所有抗原,这也使得TCR-T在实体肿瘤中应用范围更广,同时研究者也更容易找到特异性高的肿瘤抗原,使TCR-T细胞治疗的过程更加安

全,神经毒性等治疗副反应发生率较低。

TCR-T在制备的过程中主要包括以下步骤:首先将编码可识别所选抗原的TCR α 和 β 链基因转染到T细胞内,使得转染后的T细胞发生抗原结合域的改变,获得特异性杀灭肿瘤的功能;接下来,将上述基因工程T细胞于体外扩增后回输到患者体内,改造后的TCR-T细胞在识别被APC呈递的抗原-MHC复合物后,抗原刺激信号经酪氨酸酶相关信号通路在胞内传递,触发其抗肿瘤的免疫作用。

3.2 TCR-T的临床应用

3.2.1 恶性黑色素瘤 TCR-T细胞疗法的临床试验早在1998年就开始了,但在2006年MART-1特异性TCR-T细胞被成功用于治疗黑色素瘤之后,开始了越来越多的临床试验。MORGAN等^[39]将黑色素瘤相关抗原肽MART-1的特异性TCR α 和 β 链基因通过重组反转录病毒载体转染到外周血单核细胞中,之后将重组的T细胞回输入转移性黑色素瘤的患者体内。结果显示,在接受TCR-T治疗的总共17名患者中,有15名患者在输注的2个月后,体内外周血淋巴细胞水平超过原先水平的10%。2名患者在输注后1年仍可观察到高水平的TCR-T,这2名患者的转移性病灶均表现为客观缓解,该研究证实了TCR-T在恶性黑色素瘤中的治疗潜力。此后,在越来越多TCR-T细胞研究的基础上,研究者发现TCR亲和力与治疗效果呈正相关,TCR的亲和力越高,患者的应答率也随之升高。JOHNSON等^[40]用MART-1高亲和力TCR-T细胞治疗20例转移性黑色素瘤患者,发现治疗后ORR达30%。选择特定的肿瘤抗原也是TCR-T疗效优劣至关重要的影响因素,抗原在肿瘤组织中表达越广泛,特异性TCR-T疗效越好。NY-ESO-1普遍表达于多种恶性肿瘤中,在一项I期临床试验中,ROBBINS等^[41]探索了NY-ESO-1特异性TCR-T细胞治疗黑色素瘤的疗效,结果显示大多数黑色素瘤患者有客观的临床反应,黑色素瘤患者的3年和5年生存率为33%。在近期的一项Meta分析中,研究人员评估了以TCR-T为基础的免疫治疗在皮肤黑色素瘤中的疗效。分析结果显示,在187例患者中,共有50例出现客观缓解(ORR 28%),其中,接受靶向NY-ESO-1特异性TCR-T治疗的患者PFS有显著提高(风险比:0.63)^[42]。

3.2.2 滑膜细胞肉瘤 作为一种罕见的恶性肿瘤,滑膜细胞肉瘤具有高侵袭性,且容易发生远处转移。

目前针对滑膜细胞肉瘤主要以手术治疗为主,但总体预后仍较差。针对上述临床现状,ROBBINS等^[41]首先开展利用靶向NY-ESO-1的TCR-T治疗滑膜细胞肉瘤的I期临床试验。研究结果显示,在所有接受该免疫治疗的6名患者中,有4名患者出现疾病客观缓解,其中一名患者的缓解时间更是长达18个月。此外,所有接受治疗的患者均未出现明显的治疗毒副反应。鉴于I期临床试验所表现出令人满意的研究结果,ROBBINS等^[43]继续发起了靶向NY-ESO-1的TCR-T细胞治疗滑膜细胞肉瘤的II期临床试验,试验结果显示在18例接受TCR-T治疗的患者中有11例(61%)表现出临床客观缓解,1例患者达到CR且持续时间超过20个月,所有患者3年和5年总生存率分别为38%和14%。在毒性方面,所有患者均出现了短暂的中性粒细胞减少和血小板减少现象,但未发现明显的不良反应。此外,在近期最新的一项研究中,ISHIHARA等^[44]探讨了TCR-T细胞与含有长肽抗原疫苗的纳米凝胶药物结合在难治性滑膜肉瘤中的治疗效果。结果表明,纳米凝胶长肽抗原疫苗增加了淋巴结和肿瘤组织中TCR-T细胞的数量,在未消耗淋巴细胞的患者中显示出持久效应的潜力。

3.2.3 其他实体肿瘤 在其他实体肿瘤中,多项前期临床研究也报道了TCR-T细胞免疫治疗的疗效。在食管癌的临床研究中,KAGEYAMA等^[45]首次利用靶向MAGE-A4的TCR-T治疗了10例复发食管癌患者。结果显示,3例基线肿瘤大小最小的患者存活时间超过27个月,7名患者在治疗后2个月内出现PD,在这些患者中没有观察到与治疗相关的不良反应。然而,MORGAN等^[46]和DAVIS等^[47]进行的类似研究并未体现显著的疗效,后一项研究中的患者在接受TCR-T治疗后出现昏迷后死亡。此外,在一项面向多种晚期实体瘤的I/II期临床试验中,研究人员将抗间皮素抗体整合到TCR中,对32例患者进行了治疗^[48]。在30例可评价的患者中,ORR为20%,DCR为77%。间皮素除了在肿瘤内表达外,其还广泛表达于胸膜、腹膜和心包内壁的间皮细胞上。尽管疗效尚可,该疗法却展现出了显著的毒性,出现了2例呼吸衰竭相关的死亡以及5例3级以上肺炎、1例5级支气管肺泡出血的剂量限制毒性等现象。不难看出,特异性抗原的选择在TCR-T治疗中十分必要。

3.3 TCR-T的治疗毒性及处理

靶标毒性和脱靶毒性是TCR-T疗法所产生的主

要治疗毒性。如果TCR-T所靶向的抗原在正常组织上也共表达,在TCR-T细胞攻击肿瘤细胞的同时,表达相同抗原的正常细胞也会遭受攻击,产生靶标毒性,造成正常组织损伤。PARKHURST团队^[49]应用针对CEA691-699的自体TCR-T治疗了3例转移性结直肠癌患者,在接受TCR-T细胞的输注后患者出现了严重的炎症性结肠炎,提示TCR-T细胞对正常肠细胞产生了免疫反应,揭示了TCR-T潜在的靶标毒性以及肿瘤相关癌胚抗原作为癌症免疫治疗靶点的局限性。因此,要解决上述问题,需要不断探索和优化更具特异性的肿瘤抗原,以用于TCR-T的治疗。除了靶标毒性外,脱靶毒性也是TCR-T在治疗过程中不可忽视的毒性问题。它是指当体内正常组织与肿瘤抗原的靶点类似时,TCR-T可能无法有效地区分两者的差异,进而攻击了表达相似靶点的正常组织,使正常组织的功能受损。例如,在2013年,MORGAN等^[46]使用针对MAGE-A3表位TCR-T细胞治疗了9例肿瘤患者(黑色素瘤患者7例,滑膜肉瘤患者1例、食管癌患者1例)。遗憾的是,有2名患者在治疗结束后出现严重的中枢神经系统损伤,并最终死亡。造成上述严重毒副反应的原因,正是TCR-T细胞在治疗过程中,识别了大脑中表达MAGE-A12的神经元细胞,进而造成了严重的脱靶标毒性。目前降低脱靶效应的方法有以下三种:选择最优靶向抗原、适当提升TCR和pMHC亲和力、选择合适的TCR C区以及敲除内源性TCR基因^[50]。

3.4 TCR-T治疗的未来展望

总结来看,利用基因工程生产的具有识别肿瘤特异抗原的TCR-T细胞,在发挥高效杀灭肿瘤作用的同时,具有较好的特异性,即可实现肿瘤靶标的精准定位,保护正常组织及控制治疗毒副反应。进一步探索高效特异的肿瘤细胞新抗原,有望为晚期实体瘤患者带来长期生存的希望。近期,科学家们还发现了可以靶向多个肿瘤相关抗原的T细胞受体,与传统T细胞对单个抗原表位的识别相比,这种“多管”T细胞对癌细胞的识别能力更强,这使它们有望在未来应用于肿瘤免疫治疗^[51]。可尽管如此,我们还需承认在TCR-T的治疗过程中,仍面临很多挑战。例如,在某些实体肿瘤中难以鉴定出患者之间共有的肿瘤特异性抗原,治疗产生的免疫毒性(包括靶标毒性及非靶毒性)仍不可完全避免等。希望未来学者可针对上述问题,在进一步优化TCR-T制备工艺

表1 三种T细胞免疫治疗方式的差别和优劣

Table 1 The differences and advantages between three T cell immunotherapy methods

T细胞免疫治疗种类 Types of T cell immunotherapy	细胞毒性淋巴细胞 CTL	T细胞受体工程化T细胞 TCR-T	嵌合抗原受体T细胞 CAR-T
Effector cell	CD8 ⁺ CTL	CD8 ⁺ CTL	CD8 ⁺ CTL
Cell source	PBMC/TIL	PBMC/iPSC	PBMC/iPSC/UCB
Antigen recognition pattern	Natural multi-antigen recognition, with MHC	TCR dependent, with MHC	CAR dependent, without MHC
Tumor killing pattern	Perforin, granzyme, cytokine	Perforin, granzyme, cytokine	Perforin, granzyme, cytokine
<i>In vivo</i> persistence	Low	Moderate	Moderate
Ability of infiltration	High	Low	Low
Ability of improving TME	Low	Low	Low
Antigen pool	TAA/TSA	Large, all antigens presented by APC	Limited, only extracellular antigens
Safety	High	Moderate, may cause GvHD and off-target toxicities	Inferior to the other, may cause CRS, HLH, ICANS, GvHD, off-target toxicities and potential risk of secondary T cell malignancies
Clinical phase	Phase III clinical trial	Phase II clinical trial	Have been marketed

CTL: 细胞毒性淋巴细胞; TCR-T: T细胞受体工程化T细胞; CAR-T: 嵌合抗原受体T细胞; PBMC: 外周血单个核细胞; TIL: 肿瘤浸润淋巴细胞; iPSC: 诱导多能干细胞; UCB: 脐带血; MHC: 主要组织相容性复合体; TCR: T细胞受体; CAR: 嵌合抗原受体; TME: 肿瘤微环境; TAA: 肿瘤相关性抗原; TSA: 肿瘤特异性抗原; APC: 抗原呈递细胞; GvHD: 移植物抗宿主病; CRS: 细胞因子释放综合征; HLH: 噬血细胞性淋巴组织细胞增生症; ICANS: 免疫效应细胞相关神经毒性综合征。

CTL: cytotoxic lymphocyte; TCR-T: T cell receptor-gene engineered T cells; CAR-T: chimeric antigen receptor T-cell; PBMC: peripheral blood mononuclear cell; TIL: tumor infiltrating lymphocytes; iPSC: induced pluripotent stem cells; UCB: umbilical cord blood; MHC: major histocompatibility complex; TCR: T cell receptor; CAR: chimeric antigen receptor; TME: tumor microenvironment; TAA: tumor associated antigen; TSA: tumor specific antigen; APC: antigen-presenting cells; GvHD: graft-versus-host disease; CRS: cytokine release syndrome; HLH: hemophagocytic lymphohistiocytosis; ICANS: immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome.

的同时, 针对不同的恶性肿瘤, 进一步筛选肿瘤特异性抗原, 使得TCR-T技术可更加成熟地应用于临床。

4 总结

综上所述, 不难看出从CTL、CAR-T到TCR-T, T细胞免疫疗法正逐步朝着稳定、持久、高效、特异的方向发展。尽管CTL更容易浸润至肿瘤组织, 但由于CTL在体内容易耗竭, 相比CAR-T和TCR-T其抗肿瘤活性难以持久。在经过对T细胞表面受体及内部结构域的修饰后, CAR-T及TCR-T能够靶向识别肿瘤抗原, 进一步放大免疫激活信号, 产生持久的免疫反应。但相较于CAR-T, TCR-T能识别肿瘤的非表面抗原, 靶点可选择性多, 未来使用范围广, 目前有待高级别的临床证据支持其疗效。三者的具体区别已在表1中列出。

T细胞免疫治疗在血液系统肿瘤中取得了一定成效, 但对于实体瘤的疗效还有待进一步验证。究其本因, 与TME中各种复杂的免疫抑制成分所导致的免疫逃逸相关^[52], 现有的T细胞疗法既无法改善免

疫抑制性的肿瘤微环境, 又受其影响发生免疫耗竭, 最终导致T细胞疗法的疗效丧失。目前, 研究人员已开始对固有免疫细胞进行CAR修饰, 包括属于T细胞亚群的NKT细胞、 $\gamma\delta$ T细胞以及NK细胞、巨噬细胞等。研究表明, 上述经过CAR修饰的固有免疫细胞发生固有免疫效应的同时, 可以与TME中各种细胞成分发生作用, 从而改善负性的免疫微环境, 进一步提高免疫治疗疗效^[53]。目前这些研究尚处于临床早期阶段。总之, T细胞免疫疗法目前所展现的疗效优异, 结合肿瘤多组学所提供的海量肿瘤免疫基因组信息^[54], 研究人员可以更加精准地预测T细胞可以靶向的可能靶点, 并精准地识别潜在的治疗获益人群, 免疫细胞治疗的代正待开启。

参考文献 (References)

- [1] WU X, LI T, JIANG R, et al. Targeting MHC-I molecules for cancer: function, mechanism, and therapeutic prospects [J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 194.
- [2] KYRYSYUK O, WUCHERPFENNIG K W. Designing cancer immunotherapies that engage T cells and NK cells [J]. Annu Rev

- Immunol, 2023, 41: 17-38.
- [3] PETERS B, NIELSEN M, SETTE A. T cell epitope predictions [J]. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38: 123-45.
- [4] ANDRADE FILHO P A, LÓPEZ-ALBAITERO A, GOODING W, et al. Novel immunogenic HLA-A*0201-restricted epidermal growth factor receptor-specific T-cell epitope in head and neck cancer patients [J]. *J Immunother*, 2010, 33(1): 83-91.
- [5] HOFFMANN T, MARION A, ANTES I. DynaDom: structure-based prediction of T cell receptor inter-domain and T cell receptor-peptide-MHC (class I) association angles [J]. *BMC Struct Biol*, 2017, 17(1): 2.
- [6] GLOGER A, RITZ D, FUGMANN T, et al. Mass spectrometric analysis of the HLA class I peptidome of melanoma cell lines as a promising tool for the identification of putative tumor-associated HLA epitopes [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65(11): 1377-93.
- [7] ALBERS A, ABE K, HUNT J, et al. Antitumor activity of human papillomavirus type 16 E7-specific T cells against virally infected squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 11146-55.
- [8] PROCKOP S, DOUBROVINA E, SUSER S, et al. Off-the-shelf EBV-specific T cell immunotherapy for rituximab-refractory EBV-associated lymphoma following transplantation [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(2): 733-47.
- [9] TRAN E, TURCOTTE S, GROS A, et al. Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4⁺ T cells in a patient with epithelial cancer [J]. *Science*, 2014, 344(6184): 641-5.
- [10] BOLLARD C M, 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.
- [11] ROHAAN M W, BORCH T H, VAN DEN BERG J H, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte therapy or ipilimumab in advanced melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2022, 387(23): 2113-25.
- [12] TOH U, YAMANA H, SUEYOSHI S, et al. Locoregional cellular immunotherapy for patients with advanced esophageal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(12): 4663-73.
- [13] SCHEPER W, KELDERMAN S, FANCHI L F, et al. Low and variable tumor reactivity of the intratumoral TCR repertoire in human cancers [J]. *Nat Med*, 2019, 25(1): 89-94.
- [14] LIANG Y J, CHEN Q Y, XU J X, et al. A phase II randomised controlled trial of adjuvant tumour-infiltrating lymphocytes for pretreatment Epstein-Barr virus DNA-selected high-risk nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Eur J Cancer*, 2023, 191: 112965.
- [15] MAVI A K, GAUR S, GAUR G, et al. CAR T-cell therapy: reprogramming patient's immune cell to treat cancer [J]. *Cell Signal*, 2023, 105: 110638.
- [16] DWIVEDI A, KARULKAR A, GHOSH S, et al. Lymphocytes in cellular therapy: functional regulation of CAR T cells [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 3180.
- [17] DOTTI G, GOTTSCHALK S, SAVOLDO B, et al. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells [J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1): 107-26.
- [18] BROCKER T, KARJALAINEN K. Signals through T cell receptor-zeta chain alone are insufficient to prime resting T lymphocytes [J]. *J Exp Med*, 1995, 181(5): 1653-9.
- [19] MAHER J, BRENTJENS R J, GUNSET G, et al. Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta/CD28 receptor [J]. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(1): 70-5.
- [20] IMAI C, MIHARA K, ANDREANSKY M, et al. Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2004, 18(4): 676-84.
- [21] KAWALEKAR O U, RS O C, FRAIETTA J A, et al. Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells [J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 712.
- [22] PELLEGRINO M, DEL BUFALO F, DE ANGELIS B, et al. Manipulating the metabolism to improve the efficacy of CAR T-cell immunotherapy [J]. *Cells*, 2020, 10(1): 14.
- [23] DRENT E, POELS R, RUITER R, et al. Combined CD28 and 4-1BB costimulation potentiates affinity-tuned chimeric antigen receptor-engineered T cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(13): 4014-25.
- [24] CHMIELEWSKI M, ABKEN H. TRUCKs: the fourth generation of CARs [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(8): 1145-54.
- [25] MAUDE S L, LAETSCH T W, BUECHNER J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5): 439-48.
- [26] NEELAPU S S, LOCKE F L, BARTLETT N L, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(26): 2531-44.
- [27] WANG M, MUNOZ J, GOY A, et al. KTE-X19 CAR T-cell therapy in relapsed or refractory Mantle-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(14): 1331-42.
- [28] ABRAMSON J S, PALOMBA M L, GORDON L I, et al. Liso-cabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study [J]. *Lancet*, 2020, 396(10254): 839-52.
- [29] MUNSHI N C, ANDERSON L D, Jr, SHAH N, et al. Idecabtagene vicleucel in relapsed and refractory multiple myeloma [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(8): 705-16.
- [30] LEE L, DRAPER B, CHAPLIN N, et al. An APRIL-based chimeric antigen receptor for dual targeting of BCMA and TACI in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2018, 131(7): 746-58.
- [31] GOFF S L, MORGAN R A, YANG J C, et al. Pilot trial of adoptive transfer of chimeric antigen receptor-transduced T cells targeting EGFRvIII in patients with glioblastoma [J]. *J Immunother*, 2019, 42(4): 126-35.
- [32] MACKENSEN A, HAANEN J, KOENECKE C, et al. CLDN6-specific CAR-T cells plus amplifying RNA vaccine in relapsed or refractory solid tumors: the phase 1 BNT211-01 trial [J]. *Nat Med*, 2023, 29(11): 2844-53.
- [33] MILONE M C, BHOJ V G. The pharmacology of T cell therapies [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2018, 8: 210-21.
- [34] NELSON R. FDA investigating safety risks in CAR T-cell recipients [J]. *Lancet*, 2023, 402(10418): 2181.
- [35] MAJZNER R G, MACKALL C L. Tumor antigen escape from CAR T-cell therapy [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(10): 1219-26.
- [36] ORLANDO E J, HAN X, TRIBOULEY C, et al. Genetic mechanisms of target antigen loss in CAR19 therapy of acute lymphoblastic leukemia [J]. *Nat Med*, 2018, 24(10): 1504-6.

- [37] SAMUR M K, FULCINITI M, AKTAS SAMUR A, et al. Biallelic loss of BCMA as a resistance mechanism to CAR T cell therapy in a patient with multiple myeloma [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 868.
- [38] RUELLA M, KORELL F, PORAZZI P, et al. Mechanisms of resistance to chimeric antigen receptor-T cells in haematological malignancies [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(12): 976-95.
- [39] 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): 126-9.
- [40] 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): 535-46.
- [41] ROBBINS P F, MORGAN R A, FELDMAN S A, 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): 917-24.
- [42] YARZA R, BOVER M, HERRERA-JUAREZ M, et al. Efficacy of T-cell receptor-based adoptive cell therapy in cutaneous melanoma: a Meta-analysis [J]. *Oncologist*, 2023, 28(6): e406-e15.
- [43] 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): 1019-27.
- [44] ISHIHARA M, NISHIDA Y, KITANO S, et al. A phase I trial of NY-ESO-1-specific TCR-engineered T-cell therapy combined with a lymph node-targeting nanoparticulate peptide vaccine for the treatment of advanced soft tissue sarcoma [J]. *Int J Cancer*, 2023, 152(12): 2554-66.
- [45] 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): 2268-77.
- [46] 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): 133-51.
- [47] DAVIS J L, THEORET M R, ZHENG Z, et al. Development of human anti-murine T-cell receptor antibodies in both responding and nonresponding patients enrolled in TCR gene therapy trials [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(23): 5852-61.
- [48] HASSAN R, BUTLER M, O'CEARBHAILL R E, et al. Mesothelin-targeting T cell receptor fusion construct cell therapy in refractory solid tumors: phase 1/2 trial interim results [J]. *Nat Med*, 2023, 29(8): 2099-109.
- [49] 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): 620-6.
- [50] LI J, XIAO Z, WANG D, et al. The screening, identification, design and clinical application of tumor-specific neoantigens for TCR-T cells [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 141.
- [51] DOLTON G, RIUS C, WALL A, et al. Targeting of multiple tumor-associated antigens by individual T cell receptors during successful cancer immunotherapy [J]. *Cell*, 2023, 186(16): 3333-49, e27.
- [52] DE VISSER K E, JOYCE J A. The evolving tumor microenvironment: from cancer initiation to metastatic outgrowth [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374-403.
- [53] ZHANG P, ZHANG G, WAN X. Challenges and new technologies in adoptive cell therapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1): 97.
- [54] ADDALA V, NEWELL F, PEARSON J V, et al. Computational immunogenomic approaches to predict response to cancer immunotherapies [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(1): 28-46.