

· 实验室介绍 ·



赵祥博士, 2023年6月起任中国科学院分子细胞科学卓越创新中心研究员、博士生导师、研究组长, 主要从事T细胞受体抗原识别机制的基础研究与抗实体瘤TCR-T细胞疗法的开发, 在*Science*等期刊以第一作者身份发表论文5篇。获国家自然科学基金委员会原创探索计划、国家重点研发计划、中国科学院战略先导计划B支持, 获国家自然科学基金委员会优秀青年(海外)、中国科学院百人、上海浦江人才、上海科技青年35人引领计划称号。

TCR-T细胞疗法

庞梦珂 赵祥*

(多细胞结构与功能重点实验室, 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所,
中国科学院大学, 上海 200031)

摘要 T细胞是一类重要的免疫细胞, T细胞受体(TCR)是T细胞表面最重要的膜蛋白受体, 承担着活化T细胞的重要职责。TCR通过识别抗原-MHC分子复合物pMHC, 启动T细胞的特异激活。通过分离肿瘤抗原特异的TCR, 可开发攻击杀死肿瘤的TCR-T细胞疗法, 为攻克肿瘤带来新的希望。TCR-T细胞疗法的成功一方面需要合适的肿瘤抗原靶点, 包括病毒抗原、新抗原、分化抗原、癌症-睾丸抗原、过表达抗原, 以应对不同的肿瘤适应证, 另一方面需要高亲和力成熟和逆锁键工程改造等蛋白质改造手段, 来提高TCR-T细胞的激活水平。目前已有TCR-T细胞疗法获得批准上市, 但是TCR-T细胞疗法的进一步发展需要从抗原发现、TCR的蛋白质工程改造、低成本给药途径、T细胞改造、加强基础研究等方面进行努力, 在与CAR-T疗法的资源竞争中凸显其在实体瘤疗效中的优势。

关键词 T细胞; T细胞受体; TCR-T细胞疗法; 逆锁键

TCR-T Cell Therapy

PANG Mengke, ZHAO Xiang*

(Key Laboratory of Multi-Cell Systems, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

收稿日期: 2025-07-18

接受日期: 2025-09-10

国家重点研发计划(批准号: 2024YFC2309200)、中国科学院战略先导计划B(批准号: XDB0990000)、国家自然科学基金委员会原创探索计划专项项目(批准号: 82350107)、上海免疫与感染科技创新中心课题(批准号: ssIII-2024B01)和上海浦江人才计划(批准号: 23PJ1414300)资助的课题

*通信作者。Tel: 021-54921167, E-mail: xiang.zhao@sibcb.ac.cn

Received: July 18, 2025

Accepted: September 10, 2025

This work was supported by the National Key R&D Program of China (Grant No.2024YFC2309200), the CAS Strategic Priority Research Program B (Grant No.XDB0990000), the NSFC Original Exploration Program Special Project (Grant No.82350107), the Shanghai Innovation Center for Infectious and Immunological Diseases Project (Grant No.ssIII-2024B01), and the Shanghai Pujiang Talent Program (Grant No.23PJ1414300)

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921167, E-mail: xiang.zhao@sibcb.ac.cn

Abstract T cells are an important type of immune cell, and the TCR (T cell receptor) is the most crucial membrane protein receptor on the surface of T cells, responsible for activating T cells. TCR initiates the specific activation of T cells by recognizing the antigen complex pMHC. By isolating TCRs that are specific to tumor antigens, researchers can develop TCR-T cell therapies that attack and kill tumors, bringing new hope in the fight against cancer. The success of TCR-T therapy requires suitable tumor antigen targets, including viral antigens, neoantigens, differentiation antigens, cancer/testis antigens, and overexpressed antigens, to address different tumor indications. Additionally, it requires protein engineering techniques such as high-affinity maturation and catch bond engineering to enhance the activation level of TCR-T cells. Currently, some TCR-T cell therapies have been approved for market use, but further development of TCR-T cell therapy needs to focus on antigen discovery, protein engineering modifications of TCRs, low-cost delivery methods, T cell modifications, and strengthening basic research, in order to highlight its advantages in the efficacy against solid tumors amidst competition with CAR-T therapies.

Keywords T cell; T cell receptor; TCR-T cell therapy; catch bond

1 TCR-T细胞疗法的基本原理

1.1 T细胞受体的结构组成

T细胞受体(T cell receptor, TCR)与CD3复合物共同构成一个八聚体跨膜结构。TCR以异二聚体的形式存在,由一个 α 链和一个 β 链或一个 γ 链和一个 δ 链组成。CD3复合物由两个CD3 ϵ 链、两个CD3 ζ 链、一个CD3 δ 链和一个CD3 γ 链组成。虽然CD3复合物的各亚基组分是序列恒定的蛋白质,但 $\alpha\beta$ TCR和 $\gamma\delta$ TCR表现出显著的序列变异性。人类基因组理论上能够产生大约 10^{18} 种不同的TCR。这种 $\alpha\beta$ TCR和 $\gamma\delta$ TCR的巨大多样性主要通过V(D)J重排过程生成。人类基因组并不直接编码完整的TCR序列,相反,它编码许多可变(variable, V)、多样性(diverse, D)和连接(joining, J)基因片段。不同TCR链的形成是通过这些V、D和J片段,以及相对不太可变的恒定(constant, C)区域的重组。此外,除了V(D)J重组产生的多样性外,TCR链的互补决定区3(complementarity determining region 3, CDR3)内的非模板依赖性随机化会引入进一步的变异。

$\alpha\beta$ TCR的天然配体是肽-主要组织相容性复合物(peptide-major histocompatibility complex, pMHC)。肽或抗原肽来源于蛋白质的降解。考虑到抗原肽序列的巨大多样性,免疫系统拥有足够多样的TCR序列来识别不同的pMHC复合物。人类基因组有六个经典的MHC-I类分子的编码基因,称为人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA),具体为HLA-A、HLA-B、HLA-C三类基因。MHC基因在物种内表现出多态性。在人类中已识别出数千种不同的MHC-I类等位基因,它们本身是造成免疫排斥的分

子基础。

1.2 T细胞受体的信号转导

异二聚体的 $\alpha\beta$ TCR和 $\gamma\delta$ TCR缺乏固有的磷酸化位点和信号转导能力。与TCR组装在一起的CD3复合物对于下游信号通路的启动至关重要。TCR信号转导依赖于CD3各亚基所包含的免疫受体酪氨酸基激活基序(immunoreceptor tyrosine activation motif, ITAM)中的酪氨酸残基的磷酸化。每个ITAM含有两个酪氨酸残基,CD3 ϵ 、CD3 γ 和CD3 δ 各含有一个ITAM,而CD3 ζ 则具有三个ITAM。因此,整个TCR-CD3复合物总共包含十个ITAM、二十个可磷酸化的酪氨酸残基。TCR-CD3复合物中拥有如此多的ITAM的必要性并不明确,这种配置可能有助于提高TCR-CD3作为受体的敏感性。

负责T细胞中CD3磷酸化的主要激酶是LCK, LCK仅表达于T细胞中。在CD3磷酸化后,另一个特异表达在T细胞的激酶ZAP70与CD3结合,并且也可以被LCK磷酸化。一旦被磷酸化,ZAP70就会启动一个信号级联反应,包括对几个关键蛋白,如LAT、SLP-76、PLC- γ 1和ERK的磷酸化。参与TCR信号转导通路的三个最关键的转录因子是NF- κ B、AP-1和NFAT。这些转录因子转位到细胞核,激活特定的转录程序,表达特定的细胞因子等多种效应蛋白质。

1.3 T细胞亚型及其功能

T细胞可以根据TCR基因片段的特定使用情况分为不同的亚型,包括 $\alpha\beta$ T细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、恒定型自然杀伤T(invariant natural killer T, iNKT)细胞和黏膜相关T(mucosal-associated invariant T, MAIT)细胞。 $\alpha\beta$ T细胞的配体由肽-MHC-I类和-II类复合物组成,

$\alpha\beta$ T细胞利用V α 和V β 基因片段的TCR进行表达。相比之下, $\gamma\delta$ T细胞能够识别多种配体, 如肽-MHC复合物、脂质-CD1d、嗜乳脂蛋白(butyrophilin)以及尚未被鉴定出的配体, $\gamma\delta$ T细胞利用V γ 和V δ 片段的TCR进行表达。iNKT细胞是T细胞的一个独特亚群, 在人类中表达V α 24J α 18 TCR α 链和V β 11 TCR β 链以及自然杀伤细胞标记物(如CD56)。iNKT细胞的配体主要由呈递脂质抗原的CD1d分子组成。MAIT细胞以其相对固定的TCR α 链为特征, 具体为TRAV1、TRAV2与TRAJ12、TRAJ20或TRAJ33配对, 其配体由呈递代谢产物的MR1分子组成。目前, 这些T细胞亚型均在过继性T细胞转移疗法中有所研究和应用。

$\alpha\beta$ T细胞是目前T细胞研究中最深入的T细胞类型, 并且可进一步分为多种亚群。主要而言, $\alpha\beta$ T细胞可以根据表面标记物CD4或CD8的表达分为CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞。外周免疫系统中大多数T细胞属于这两类。在过去的三十年中, 研究人员进一步将CD4⁺ T细胞细分为几个亚群, 包括T_{H1}、T_{H2}、T_{H17}、T滤泡辅助细胞(follicular helper T cell, T_{fh})和调节性T细胞(regulatory T cell, T_{reg})。值得注意的是, T_{reg}细胞对于调节T细胞活性、促进抗炎反应、维持组织稳态和提高外周耐受性至关重要。近年来随着技术的进步, 例如通过单细胞RNA测序, 人们对更多的T细胞亚型, 如CD8⁺耗竭T细胞的特征和功能有了更深入的认识和更精准的界定。目前, 过继性T细胞转移疗法也在尝试通过分离不同类型的 $\alpha\beta$ T细胞来进一步提高疗效。

1.4 TCR-T细胞疗法的设计

T细胞受体工程化T细胞(T-cell receptor-engineered T cells, TCR-T)疗法的历史超过三十年。这种治疗方法涉及对特定T细胞的扩增, 随后将其输注到患者体内以对抗癌症。TCR-T细胞疗法的发展可以分为几个世代。第一代涉及从患者体内收集外周血以分离和扩增T细胞, 然后再输回同一患者。第二代通过克隆肿瘤特异性野生型TCR并将其转导到患者的T细胞中, 这一阶段推动了TCR-T疗法的发展^[1]。第三代专注于肿瘤浸润淋巴细胞的分离和扩增。第四代进一步完善了这一方法, 通过高亲和力成熟技术来增强肿瘤特异性野生型TCR的信号强度, 不过这也增加了潜在的脱靶毒性风险^[2]。目前, 本实验室正在探索一种被称为逆锁键工程改造(catch bond

engineering)的新技术, 旨在产生低亲和力但高效能的TCR, 可能标志着第五代的TCR-T细胞疗法的诞生^[3]。逆锁键(catch bond)是一种与力相关的非共价结合作用, 是参与受体-配体结合的动态键之一。逆锁键的键寿命随着施加到键上外力的强度增加而增加, 与之相对的是在生命活动中已被广泛发现的滑移键(slip bond), 其键寿命随着施加到键上的力的强度增加而减短。逆锁键主要参与细胞黏附、细胞活化等过程, 并与滑移键组成分子开关来调节各项与分子黏附相关的生命活动。值得注意的是, 来自第三代和第四代TCR-T技术的TCR-T细胞疗法产品已获得美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)的批准。

TCR-T细胞疗法的开发通常需要鉴定出一种高效的肿瘤特异性TCR。识别此类TCR的方法有多种。一种方法是利用树突状细胞呈递特定的肿瘤抗原肽, 去刺激来自健康供体或患者的外周T细胞。接下来可以通过pMHC四聚体染色与抗CD137染色来识别特定的T细胞。pMHC四聚体是由四个MHC分子单体与荧光素标记的链霉亲和素结合形成的复合物, 其能与T细胞表面的特异性TCR高效结合, 通过荧光信号可快速识别并分选肿瘤抗原特异性T细胞; 而CD137(又称4-1BB)是T细胞活化后表达的共刺激分子, 当T细胞识别肿瘤抗原被激活时, CD137在细胞表面表达上调, 因此抗CD137染色可作为T细胞活化的标志, 与pMHC四聚体联合使用能更精准筛选出兼具抗原特异性和活化能力的T细胞。需要注意的是, 野生型TCR通常只能被肿瘤抗原弱激活, 因为许多肿瘤抗原本质上是来源于自体蛋白质的降解, 因此会导致外周T细胞耐受性。通常可以采用高亲和力和成熟技术, 如核糖体展示、噬菌体展示和酵母展示, 来创建TCR文库并选择亲和力在皮摩尔每升或纳摩尔每升范围内的高亲和力TCR变体。另外一种被称为逆锁键工程改造的新方法利用了TCR的机械力感应特性, 可以延长TCR与pMHC复合物之间的相互作用时间^[4]。本实验室的研究发现, 相比于亲和力, TCR激活信号的强度与逆锁键水平的相关性更强^[3]。本实验室开发了可以发挥高通量功能筛选优势的T细胞展示TCR文库技术, 用于分离低亲和力、高激活性的TCR变体, 这其中的关键技术要点便是定向进化拥有低水平的肿瘤抗原pMHC四聚体染色和高水平的抗CD69染色的TCR变体^[3]。

此外,在生产TCR-T细胞的过程中,还必须考虑几个关键因素。例如,为了最小化与内源性TCR的错误配对,改造的TCR通常使用小鼠TCR的恒定区。此外,利用高效的慢病毒或逆转录病毒转导载体,以确保TCR-T细胞的良好转导阳性率。

1.5 TCR-T细胞疗法的靶点

治疗靶点是TCR-T细胞疗法中的关键组成部分。与仅限于靶向膜蛋白的嵌合抗原受体工程化T细胞(chimeric antigen receptor-engineered T cell, CAR-T)疗法不同,TCR-T细胞疗法可以利用整个蛋白质组作为潜在的治疗靶点。这种更广泛的适用性源于MHC分子呈递的抗原肽可以来自细胞内蛋白。各种类别的靶点已被广泛研究并应用于临床试验^[5]。

第一类靶点包括病毒抗原。某些病毒感染与肿瘤发生相关。例如,爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus, EBV)与B细胞淋巴瘤和鼻咽癌相关,人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)与宫颈癌相关,乙型肝炎病毒(hepatitis B, HBV)与肝细胞癌相关。来自这些病毒的抗原肽因其肿瘤细胞的特异性而成为TCR-T细胞疗法的高价值靶点。常见病毒抗原包括来自EBV蛋白的肽,如LMP1、LMP2和EBNA1,以及HPV E6、HPV E7肽,和HBV HBsAg衍生的肽。

第二类靶点是新抗原。这些靶点是TCR-T细胞疗法中特别有吸引力的靶点,因为它们通常是肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigen, TSA),其仅在肿瘤细胞中表达,而在健康组织中不表达。新抗原的来源复杂,最常见的类型源于基因中的点突变。这些突变基因被翻译,产生的突变被处理成肽,随后由MHC分子呈递。某些新抗原在多个患者中常见,被称为公共新抗原(public neoantigen)。一个典型的例子是KRAS-G12C/D/V新抗原,该抗原已在TCR-T细胞疗法的临床试验中被广泛使用。目前研究较多的公共新抗原还包括P53突变相关新抗原(如TP53 R175H、TP53 G245S,在肺癌、乳腺癌、结直肠癌中均有发现)、BRAF V600E新抗原(常见于黑色素瘤、甲状腺癌)、EGFR L858R新抗原(在非小细胞肺癌中高频出现)等。其中,针对TP53 R175H新抗原的TCR-T疗法已进入临床前研究阶段,其在小鼠肿瘤模型中可有效清除表达该突变的肿瘤细胞;BRAF V600E特异性TCR-T细胞在体外实验中对黑色素瘤细胞的杀伤效率可达80%以上,为后续临床试验奠定基础。

第三类靶点为癌症-睾丸抗原。这些抗原主要在肿瘤细胞和睾丸中表达,使其成为肿瘤特异性抗原并且是理想的TCR-T细胞疗法靶点。目前正在临床评估的癌症-睾丸抗原包括NY-ESO-1和MAGE家族等,其中第一个获得FDA批准的TCR-T细胞疗法的便是靶向MAGE-A4抗原。

第四类靶点为过表达抗原。顾名思义,这些抗原在肿瘤细胞中以较高水平存在,而在健康组织中以低水平表达。通过TCR-T细胞疗法靶向这些过表达抗原可能导致轻度到严重的靶向毒性,损伤健康组织。最著名的过表达抗原是WT-1(Wilms' tumor-1),在包括结直肠癌、肺癌、乳腺癌和血液恶性肿瘤在内的多种实体肿瘤中显著过表达^[6],并根据美国国家癌症研究所(National Cancer Institute, NCI)的分析被评为综合排名第一的肿瘤抗原^[7]。

第五类靶点为分化抗原。分化抗原来源的蛋白质由特定细胞谱系表达,并在特定器官和组织的发展中发挥关键作用。例如,涉及色素合成和皮肤发育的几个分化抗原在黑色素瘤和健康皮肤细胞中均有表达,表达产物包括TRP1、TRP2、MART-1和gp100。靶向分化抗原可能会导致肿瘤细胞的消除,但也存在损害健康组织的风险,往往伴随较为严重的副作用。

2 TCR-T细胞疗法的临床前研究和临床试验

2.1 临床前TCR-T研究

TCR-T细胞疗法的临床前研究主要集中在新靶点的识别、分离肿瘤抗原特异性TCR的新技术的开发、TCR工程改造新技术的研发,以及制定有效的策略以增强TCR-T细胞疗法的疗效。

TCR-T细胞疗法已有超过一百个抗原靶点正在被研究。靶点明确的TCR-T细胞疗法是一种较为传统的研发思路,其优点是能够较为广泛地应用于众多该抗原阳性的肿瘤患者。然而,在精准医学和个性化治疗的影响下,也有新兴的TCR-T细胞疗法采取针对肿瘤患者进行全外显子测序来获得个性化的新抗原序列与组合,从而开发个性化的TCR-T细胞疗法。这一新思路的优势是针对特定患者可能可以发现效果更佳的治疗性抗原靶点,但缺点是无法推广、价格昂贵。

TCR-T细胞疗法的一个重要的挑战是获得肿瘤

抗原特异的野生型TCR。解决这一挑战的一种方法是通过各种体外抗原刺激技术筛选来自健康供体的TCR。一种常见的方法是将特定的抗原肽负载到自体树突状细胞(dendritic cell, DC)上,然后将这些DC与来自HLA匹配供体的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)共同培养,这个过程通常需要超过两周的细胞培养。随后,特定T细胞克隆的识别和分离主要通过pMHC四聚体染色和CD137染色来实现。阳性克隆可以通过细胞分选技术进行分离,并使用5'快速扩增cDNA末端(5'-rapid amplification of cDNA ends, 5'-RACE)或先进的单细胞TCR测序技术进行测序(图1)。

另外一类方法主要是从患者样本中分离特定的TCR。肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)可能携带肿瘤抗原特异性TCR,这些细胞可以从患者肿瘤标本中提取。在这种情况下,特定T细胞克隆的识别同样采用pMHC四聚体和CD137染色。

从健康供体获取TCR的优势在于供体来源相对广泛,可针对特定抗原进行大规模筛选,获得的TCR可用于更多HLA匹配的患者;劣势是可能存在一定的免疫排斥风险,且供体T细胞对患者肿瘤抗原的识别可能不如患者自身T细胞精准。从患者自身获取TCR(如从TIL中分离)的优势在于T细胞更适应患者自身的免疫微环境,对肿瘤抗原的识别更具特异性,可降低免疫排斥和脱靶风险;劣势是患者自身T细

胞可能存在功能耗竭、数量较少以及分离和扩增难度较大等特点,且仅能用于该患者自身,无法推广应用。

TCR-T细胞疗法利用来自细胞外和细胞内蛋白质的抗原肽。然而,这些抗原靶点中有相当一部分是自体抗原肽。这一特性通常导致野生型TCR对这些靶点的反应较弱。因此,蛋白质工程技术在TCR-T细胞疗法的开发中被广泛应用。值得注意的是,唯一获得FDA批准的双特异性T细胞结合剂(bispecific T cell engager, BiTE)疗法和唯一的TCR-T细胞疗法均使用高亲和力成熟的TCR。高亲和力成熟是TCR工程领域内主要的蛋白质工程方法。然而,高亲和力TCR可能与健康组织和器官中存在的其他自体抗原肽表现出交叉反应,可能导致严重的脱靶毒性^[8-9]。高亲和力TCR引发脱靶毒性的核心机制是“交叉反应”:TCR的互补决定区(complementarity determining region, CDR)不仅能识别靶抗原-pMHC复合物,还可能与健康组织中某些自体抗原-pMHC复合物发生非特异性结合。例如,针对MAGE-A3的高亲和力TCR曾被发现与心肌细胞表面的肌联蛋白(Titin)衍生肽-HLA-A1复合物结合,导致患者出现严重心血管毒性^[8-9]。而Afami-cel(靶向MAGE-A4)虽经高亲和力成熟却未表现出显著脱靶毒性,可能与其TCR的结构特性相关——通过定向进化筛选,其CDR区域对MAGE-A4-pMHC的结合特异性显著高于其他自体抗原-pMHC,且体外交叉反应验证显示

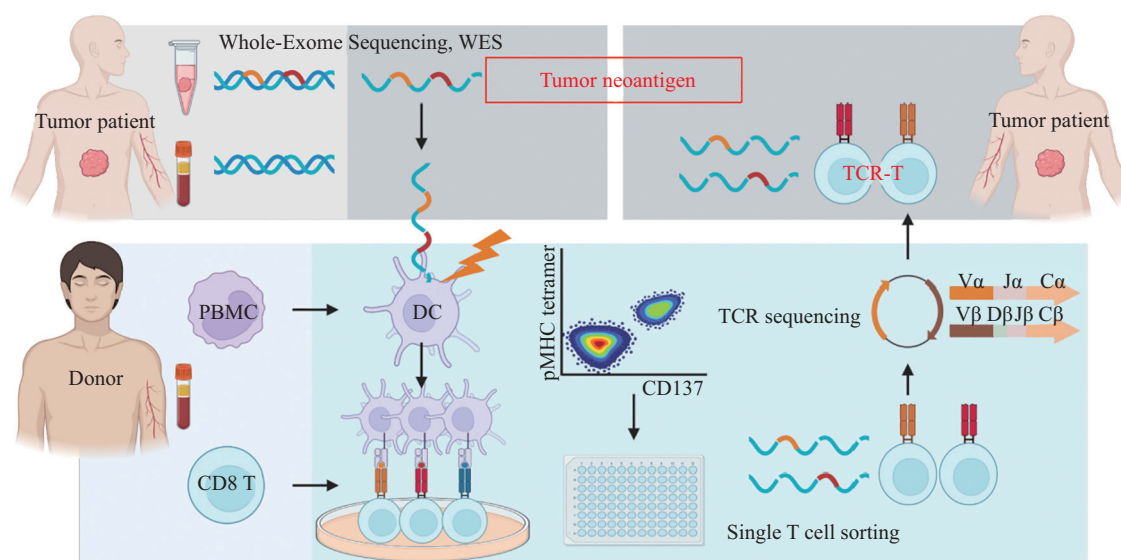


图1 个性化的肿瘤新抗原的发现与健康供体来源的TCR-T细胞疗法的开发流程

Fig.1 Process for personalized tumor neoantigen discovery and development of TCR-T cell therapy derived from healthy donors

其与200余种常见自体抗原-pMHC无结合活性^[17-19]。降低交叉反应的技术路径主要包括三类:一是结构导向的TCR突变优化,通过解析TCR与靶pMHC的复合物晶体结构,对CDR区域关键氨基酸进行定点突变,增强靶向结合特异性;二是计算机辅助的脱靶风险预测,利用人工智能模型模拟TCR与海量自体抗原-pMHC的结合能,提前排除高脱靶风险的TCR变体;三是体外多维度验证体系,通过流式细胞术检测TCR-T细胞对表达不同自体抗原的健康细胞(如心肌细胞、肝细胞)的杀伤活性,确保无脱靶损伤。

最近,逆锁键工程改造作为一种有前景的策略,用于开发低亲和力但高激活性的TCR,且研究表明TCR激活信号强度与逆锁键水平成正比。逆锁键是指在剪切力下TCR与特异pMHC复合物之间的相互作用,包括新形成的氢键、盐桥和范德华力,这延长了TCR与特定pMHC的结合时间。因此,逆锁键工程改造可能代表了一种创新的蛋白质工程方法,以获得既安全又有效的TCR(图2)。

本实验室针对逆锁键改造TCR的安全性研究显示,在靶向NY-ESO-1抗原的实验中,逆锁键改造的TCR亲和力($K_d \approx 100$ nmol/L)显著低于高亲和力成熟TCR($K_d \approx 10$ pmol/L),但在体外杀伤实验中对NY-ESO-1阳性肿瘤细胞的杀伤效率(约75%)与高亲和力TCR相当;更重要的是,对表达20余种潜在交叉反应自体抗原的健康细胞,逆锁键改造TCR-T细胞的杀伤率均低于5%,而高亲和力TCR-T细胞对部分自体抗原阳性细胞的杀伤率可达20%~30%^[3]。在小鼠荷瘤模型中,逆锁键改造TCR-T细胞可有效抑制肿

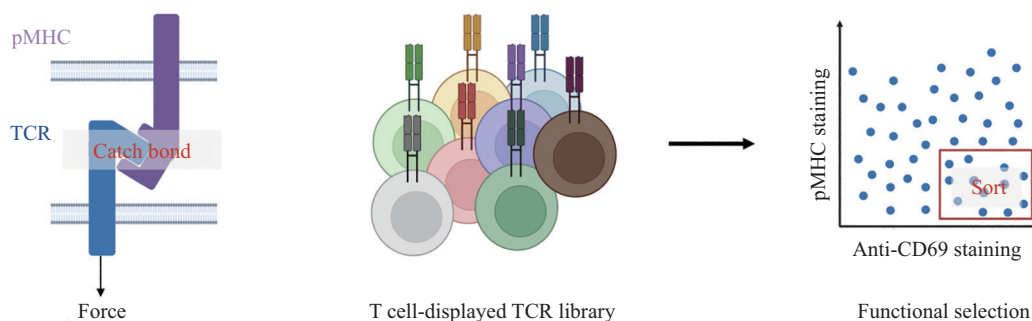
瘤生长(肿瘤体积缩小80%以上),且小鼠体质量、肝肾功能指标无显著异常,而高亲和力TCR-T组小鼠出现轻微肝损伤(ALT水平升高2倍)^[3]。此外,逆锁键改造的TCR与非靶pMHC的结合寿命在剪切力下无显著延长,进一步说明其脱靶结合风险低^[4]。

最近的研究表明,仅仅存在强效的TCR并不足以开发有效的TCR-T细胞疗法。晚期实体瘤通常表现出高度免疫抑制性的微环境,这对T细胞的浸润和存活是有害的。此外,某些TCR-T细胞可能经历表观遗传重塑并分化为耗竭状态,导致功能受损。研究提出,结合额外的基因修饰和代谢重编程可能改善TCR-T细胞疗法的疗效和提升其持久性。然而,值得注意的是,大多数旨在进一步工程化T细胞的临床前研究主要集中在CAR-T细胞,而非TCR-T细胞上^[10-12]。因此,迫切需要加大力度研究创新策略,以协同TCR工程改造并增强TCR-T细胞疗法的疗效。

2.2 TCR-T细胞疗法的临床研究

全球范围内已经开展了众多涉及T细胞受体工程化T细胞(TCR-T)疗法的临床试验,目前有数百项正在进行中。2006年,Steven ROSENBERG及其团队^[1]首次报道了TCR-T细胞疗法在实体肿瘤中的应用,该方法主要是利用DMF4 TCR转导的T细胞针对黑色素瘤患者的HLA-A*02:01-MART-1抗原进行的。

根据clinicaltrials.gov的报告,自2000年以来,涉及TCR疗法的临床试验已超过700项,其中专注于TCR-T细胞疗法的临床试验超过100项(图3)。这些临床试验中有相当一部分针对HLA-A*02:01呈递的



TCR的逆锁键工程改造始于构建T细胞展示的TCR文库。在抗原刺激后,文库根据低水平pMHC四聚体染色和高水平抗-CD69染色的框门进行分选。

The engineering of TCR catch bond starts with the construction of a TCR library displayed on T cells. After antigen stimulation, the library is sorted based on gating for low-level pMHC tetramer staining and high-level anti-CD69 staining.

图2 逆锁键机制与逆锁键工程改造

Fig.2 Mechanism and engineering of catch bond

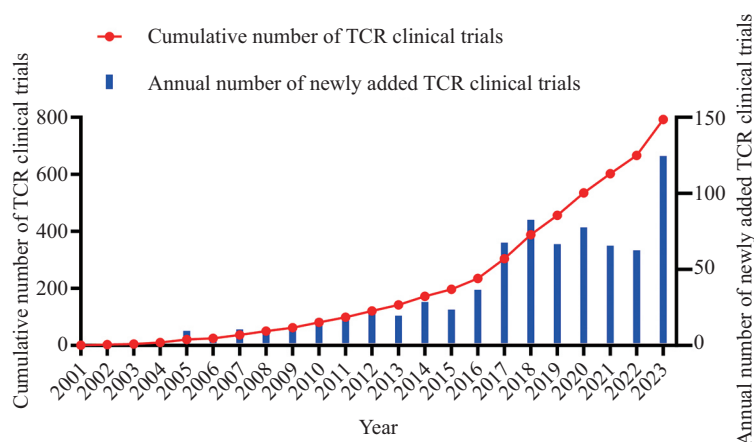


图3 TCR疗法临床试验的增长情况(2001—2023)

Fig.3 Growth trend of TCR therapy clinical trials (2001—2023)

抗原,其中NY-ESO-1成为最常被使用的抗原靶点。此外,这些临床试验大多数是在实体肿瘤的背景下进行的^[13]。

如前所述,TCR-T细胞疗法的抗原靶点可以分为几个不同的类别:分化抗原、癌症-睾丸抗原、病毒抗原和新抗原。每个类别在TCR-T细胞疗法中都有所探索,显示出不同程度的疗效和相关毒性。

分化抗原是TCR-T临床试验中最初测试的类别。在ROSENBERG对MART-1的研究之后,针对MART-1、gp100和癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的额外试验也随之进行。尽管针对分化抗原的疗法的疗效达到了约30%,但他们观察到了显著的肿瘤脱靶毒性^[14]。然而这并不意外,因为分化抗原在组织分化中发挥着关键作用,通常在相关健康组织中高水平表达。值得注意的是, Kimmtrak是首个获得批准的基于TCR的治疗,针对的就是分化抗原gp100。

癌症-睾丸抗原是TCR-T细胞临床试验中数量最多的类别。抗原NY-ESO-1是最常被使用的TCR-T细胞疗法靶点,约占所有TCR-T临床试验中的30%^[13]。MAGE家族,特别是MAGE-A3和MAGE-A4,也作为TCR-T细胞疗法临床试验的靶点得到了广泛研究。首个获得批准的TCR-T细胞疗法专门针对MAGE-A4。癌症-睾丸抗原是非常有吸引力的抗原类型,因为它们靶向健康组织的毒性最小,并且具有高效杀伤肿瘤的潜力,疗效可达60%。然而,针对MAGE-A3的临床试验由于高亲和力和成熟,TCR与健康组织的交叉反应而导致了严

重的脱靶毒性^[8-9,15]。这凸显了针对癌症-睾丸抗原的一个重大局限性,迫切需要TCR工程来减弱潜在的脱靶毒性。诸如逆锁键工程等新技术在解决这些挑战方面显示出希望,尽管仍需进一步的临床数据和验证。总体而言,针对癌症-睾丸抗原的TCR-T细胞临床试验数量仍将迅速增加。其中,NY-ESO-1特异性TCR-T的表现尤为突出。一项在中国开展的I期临床试验显示,针对HLA-A*02:01阳性的晚期软组织肉瘤患者,NY-ESO-1 TCR-T疗法的客观缓解率(objective response rate, ORR)达40%,其中8%的患者实现完全缓解,中位总生存期为18个月,且仅1例患者出现2级皮疹,安全性良好^[21]。该结果表明,NY-ESO-1作为靶点在实体瘤治疗中具有较高的临床价值,也为中国TCR-T疗法的研发提供了重要数据支撑。

在病毒抗原领域,已经启动了众多TCR-T临床试验,针对来自人乳头瘤病毒(HPV)、乙型肝炎病毒(HBV)和爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)的抗原。其中一些试验报道的ORR高达50%。国内一项针对HBV相关肝细胞癌的I期临床试验结果显示,8例晚期肝癌患者中位总生存期达33.57个月(索拉非尼10.7个月);1例肝移植患者转移瘤缩小且无治疗相关不良反应。然而,尚未有针对病毒抗原的TCR-T细胞疗法获得批准,因为这些抗原并不是泛癌症靶点,这限制了它们在特定适应证(如宫颈癌、肝癌、淋巴瘤和鼻咽癌)中的适用性。

新抗原在TCR-T临床试验中越来越被认为是重要的靶点。一些新抗原在多个患者中共享,被称

为公共新抗原。例如, KRAS-G12D在各种TCR-T管线中被选择为治疗靶点。针对KRAS-G12D的临床试验显示, 在1名胰腺癌患者中, 输注超过150亿个TCR-T细胞后肿瘤负担显著减轻, 表明TCR-T细胞疗法在免疫抑制肿瘤环境中的前景良好^[16]。在某些临床试验中, 科研人员会使用多种TCR分子对抗肿瘤。患者的全外显子被测序以识别癌症相关突变, 然后用于预测和合成含有新抗原的疫苗。这些疫苗可以刺激免疫反应, 从而允许特定T细胞的分离、扩增和再输注到患者体内。因此, 新抗原在TCR-T细胞疗法中的应用是多方面的, 使其在这一领域中越来越具有吸引力。

Afami-cel是由Adaptimmune开发的、2024年获得FDA批准的首个也是目前唯一的TCR-T细胞疗法。该疗法专门针对HLA-A*02:01-MAGE-A4复合物, 适用于治疗肉瘤。II期临床试验的结果表明, Afami-cel在肉瘤患者中达到了40%的ORR^[17-19]。Afami-cel中使用的TCR经过高亲和力成熟, 使其能够以微摩尔每升范围的亲和力结合HLA-A*02:01-MAGE-A4。值得注意的是, 尽管经过高亲和力成熟, 但临床试验并未报道显著的脱靶毒性, 这表明这种成熟可能具有提供有限毒性的潜力。Afami-cel的定价为72 000美元, 超过了大多数CAR-T细胞疗法的价格。

2022年, 由Immunocore开发的Kimmtrak成为首个也是唯一一个获得FDA批准的基于T细胞受体(TCR)的蛋白药物。虽然Kimmtrak不被归类为TCR-T细胞疗法, 但其批准展示了基于TCR的药物的治疗潜力, 并为此类疗法的发展提供了重要的替代框架。一些研发管线将这种方法称为双特异性T细胞结合剂(BiTE)或T细胞结合剂(T cell engager, TCE)。越来越多专注于TCR技术的公司已启动了TCR-T细胞疗法和TCE的研发管线, 后者通常被认为是一种更具成本效益的治疗选择。BiTE机制涉及一种双特异性抗体, 能够同时靶向pMHC和CD3, 从而促进T细胞与肿瘤细胞的结合, 并将T细胞特异性重新定向到恶性肿瘤。Kimmtrak专门针对HLA-A*02:01-gp100复合物, 使用高亲和力成熟的TCR治疗葡萄膜黑色素瘤。在一项II期临床试验中, Kimmtrak在127名患者中有6名显示部分反应, 整体反应率为5%。在III期临床试验中, Kimmtrak治疗组的1年总生存率为73%, 而对照组为59%^[20]。

最近的一项I期临床试验报告显示, 针对HLA-

A*02:01-NY-ESO-1的TCR-T细胞疗法在肉瘤患者中显示出41.7%的ORR^[21], 中位无进展生存期(progression-free survival, PFS)为7.2个月, 中位缓解持续时间(duration of response, DOR)为13.1个月, 且患者没有出现治疗相关的严重不良反应。该试验代表了在中国进行的最迅速推进的TCR-T临床研究之一。鉴于大多数获批的CAR-T疗法均来自美国或中国, 因此人们期待中国在TCR-T细胞疗法方面的更多临床试验结果。值得注意的是, NY-ESO-1已成为TCR-T临床试验中最常被靶向的抗原, 而肉瘤在TCR-T细胞疗法中表现出特别有前景和较高的ORR。表1^[22]列出了当前国际关键TCR-T治疗实体瘤的临床试验结果。

3 TCR-T细胞疗法的挑战与机遇

3.1 靶点

当前TCR-T细胞疗法的格局显示出数量有限的有效靶点, 特别是在实体肿瘤方面。尽管在TCR-T细胞疗法中对数百个靶点进行了广泛测试, 但这些靶点仍然无法覆盖所有肿瘤患者。一个显著的限制来自HLA分型, 因为在临床实践和试验中使用的大多数肿瘤抗原主要针对HLA-A*02:01分型。因此, HLA-A*02:01阴性患者的抗原肽信息相对匮乏。例如, 东亚地区超过6亿人为HLA-A*11:01或HLA-A*24:02阳性, 这凸显了进一步研究其他HLA分型呈递的治疗靶点序列的必要性。

此外, 许多肿瘤抗原仅适用于特定肿瘤或患者群体。虽然某些病毒抗原特异性TCR-T显示出良好的结果, 但其适用性通常仅限于特定恶性肿瘤, 例如肝细胞癌中的HBV抗原仅适用于肝细胞癌患者。同样, KRAS-G12C/D/V新抗原仅与携带这些突变的患者相关。因此, 我们需要扩展对肿瘤抗原的认识, 以确保为每种类型的实体肿瘤提供多样化的抗原靶点, 从而满足不同患者的多样化需求。

3.2 TCR的工程改造

某些重要的肿瘤抗原类别, 包括癌症-睾丸抗原、过表达抗原和分化抗原, 被归类为自体抗原肽, 通常外周T细胞会对其产生耐受。因此, 迫切需要进行TCR工程改造, 以增强TCR对这些自体抗原肽的识别能力。高亲和力成熟的改造技术已被广泛应用于TCR-T, 并且被FDA批准的基于高亲和力TCR的TCR蛋白药和TCR-T细胞药, 成为迄今为止首个也是唯一的TCR蛋白药物和TCR-T细胞疗法。然而,

表1 当前国际关键TCR-T治疗实体瘤的临床试验结果

Table 1 Current key clinical trial results of TCR-T therapy for solid tumors worldwide

抗原类型	适应证	抗原	临床反应	副作用
Classification of antigen	Indication	Antigen	Clinical response	Adverse events
Differentiation antigen	Melanoma	MART-1	2 PR (20-21 m); ORR: 11.8%	None
Differentiation antigen	Melanoma	MART-1	6 PR (3-17 m); ORR: 30%	Skin rash (70%), uveitis (55%), hearing loss (50%)
Differentiation antigen	Melanoma	gp100	1 CR (>14 m); 2 PR (3-4 m); ORR: 18.8%	Skin rash (94%), hearing loss (31%), uveitis (25%)
Differentiation antigen	Melanoma	MART-1	2 PR (4-7 m); ORR: 16.7%	Skin rash (83%), hearing loss (33%), uveitis (17%), CRS (8%)
Cancer/testis antigen	Melanoma, sarcoma	NY-ESO1	2 CR (>20 m); 7 PR (3-18 m); ORR: 52.9%	None
Cancer/testis antigen	Melanoma, sarcoma	NY-ESO1	2 PR (9-51 m); ORR: 20%	CRS (10%)
Cancer/testis antigen	Melanoma, sarcoma	NY-ESO1	1 CR (8 m); 5 PR (4-18 m); ORR: 50%	CRS (41.7%)
Cancer/testis antigen	Synovial sarcoma	NY-ESO1	9 PR (2-13 m); ORR: 30%	NE
Neoantigen	Synovial sarcoma	KRAS G12D	1 PR (>6 m); ORR: 100%	None
Viral antigen	HPV ⁺ tumor	HPV16-E6	2 PR (3-6 m); ORR: 16.7%	None
Viral antigen	HPV ⁺ tumor	HPV16-E7	6 PR (3-9 m); ORR: 50%	None
Cancer/testis antigen	Non-small-cell carcinoma	MAGE-A10	1 PR (6 m); ORR: 9%	ICANS (9.1%)
Viral antigen	HIV ⁺ liver tumor	HBV	1 PR (27 m); ORR: 12.5%	Liver toxicity (12.5%)
Neoantigen	Metastatic breast tumor	TP53	1 PR (6 m); ORR: 100%	CRS
Cancer/testis antigen	Multiple tumor	MAGE-A3	1 CR (>15 m); 4 PR (>12 m); ORR: 56%	ICANS (33%) (2 deaths)
Cancer/testis antigen	Multiple tumor	MAGE-A3	ORR: 0%	Toxic death (100%)
Cancer/testis antigen	Multiple tumor	MAGE-A3	1 CR (>29 m); 3 PR (4 to >18 m); ORR: 23.5%	Hepatitis (12%)
Cancer/testis antigen	Multiple tumor	MAGE-A4	9 PR (NE); ORR: 23.7%	CRS (50%)
Cancer/testis antigen	Multiple tumor	NY-ESO1	ORR: 0%	None

NE: 非特异性。

NE: not specified.

这种方法与显著的不良反应相关,包括脱靶和脱肿瘤毒性。因此,有必要开发更复杂的TCR工程技术,以实现高效能和安全性。最近,逆锁键工程作为一种有前景的策略出现,用于开发低亲和力但高效能的TCR,从而确保更安全和更有效的治疗。

3.3 成本

与CAR-T和其他各种细胞疗法类似,目前的TCR-T细胞疗法被归类为自体细胞疗法。该过程需要从患者体内分离T细胞,随后进行体外细胞工程改造,以及众多复杂的步骤和漫长的时间线。首个TCR-T细胞疗法Afami-cel的定价为720 000美元,这一高昂的成本阻碍了TCR-T细胞疗法和其他细胞疗法的发展。我们必须通过科学的进步来找到应对这一财务挑战的策略。一种潜在的方法是开发“现货型”TCR-T产品,利用来自健康供体的TCR-T细

胞。这一策略的关键在于对T细胞进行基因修饰,以消除任何移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GvHD)和宿主抗移植物反应。

另一个正在探索的方向是开发体内编辑技术,例如使用脂质纳米颗粒(lipid nanoparticle, LNP)递送编码TCR蛋白的mRNA以进行体内T细胞修饰。然而,这种方法仍处于早期开发阶段,必须克服与CD8 T细胞的靶向特异性和转导效率相关的挑战。自然杀伤细胞(natural killer cells, NK cells)被认为具有较低的GvHD风险,并已被开发为CAR-NK细胞用于通用型CAR疗法。尽管临床结果尚未对外公布,但是一些研究项目已开始探索开发TCR-NK细胞,以促进通用型TCR细胞疗法的发展。

3.4 治疗效果

目前的TCR-T细胞疗法尚未完全克服与实体

肿瘤相关的挑战。阻止 TCR-T 细胞有效消灭所有肿瘤细胞并最终控制肿瘤生长的潜在机制是复杂的。肿瘤细胞的异质性表明, 针对特定抗原设计的 TCR-T 细胞可能不足以完全消灭所有肿瘤细胞。尽管 TCR-T 细胞的浸润能力优于 CAR-T 细胞, 但它们在肿瘤浸润和肿瘤微环境的抑制特性方面仍面临重大障碍。此外, TCR-T 细胞可能会分化为耗竭的 T 细胞, 长期抗原暴露、表观遗传重编程和代谢挑战, 导致细胞因子分泌和肿瘤细胞细胞毒性能力下降。为了增强其治疗效能, TCR-T 细胞可能受益于额外细胞工程策略的结合, 包括代谢重编程、表观遗传重编程和靶向多个抗原。

3.5 基础研究以及与CAR-T的协同与竞争

根据 PubMed 的数据, 在过去五年中, 每年平均有 2 000 篇关于 TCR 的论文, 而关于 CAR 的论文则超过 5 000 篇, 并且仍在快速增长。TCR 作为免疫学中最复杂的受体, 占据免疫学研究的中心已超过 30 年。然而, 与 CAR 分子相比, 关于 TCR 的研究要少得多。对 TCR 生物学、TCR 信号转导和肿瘤微环境中 T 细胞分化的基础研究的缺乏, 将会延缓 TCR-T 的发展进程。

在细胞治疗研究和投资方面, CAR-T 的社会投资、研发管线和全球 IND (Investigational New Drug) 批准数量是 TCR-T 的十倍, 这使得 TCR-T 在实体瘤治疗领域的发展面临更多资源竞争。

在实体肿瘤治疗方面, 基于现有临床数据 (如针对滑膜肉瘤的 Afami-cel、针对软组织肉瘤的 NY-ESO-1 TCR-T), 在匹配相同肿瘤类型 (如肉瘤) 和相似基线状态 (如晚期、既往接受过 2 线及以上治疗) 的患者群体中, TCR-T 的 ORR 通常为 40%~50%, 高于 CAR-T 在同类实体瘤中的 ORR (约 20%~30%)^[17,21]。但需注意的是, 目前实体瘤 TCR-T 临床试验的样本量仍较小 (多数 II 期试验样本量 < 100 例), 且缺乏大规模头对头临床试验数据, 未来需通过多中心、大样本临床研究进一步验证 TCR-T 在实体瘤中的优势。因此, 应加强对 TCR-T 基础研究的关注和投资, 同时探索与 CAR-T 的协同治疗模式, 为人类战胜癌症提供多样化的选择。

参考文献 (References)

[1] 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.

[2] LI Y, MOYSEY R, MOLLOY P E, et al. Directed evolution of human T-cell receptors with picomolar affinities by phage display [J]. *Nat Biotechnol*, 2005, 23(3): 349-54.

[3] ZHAO X, KOLAWOLE E M, CHAN W, et al. Tuning T cell receptor sensitivity through catch bond engineering [J]. *Science*, 2022, 376(6589): eabl5282.

[4] LIU B Y, CHAN W, EVAVOLD B D, et al. Accumulation of dynamic catch bonds between TCR and agonist peptide-MHC triggers T cell signaling [J]. *Cell*, 2014, 157(2): 357-68.

[5] ZHAO X, SHAO S, HU L. The recent advancement of TCR-T cell therapies for cancer treatment [J]. *Acta Biochim Biophys Sin* 2024, 56(5): 663-74.

[6] SUGIYAMA H. Wt1 (Wilms' tumor gene 1): biology and cancer immunotherapy [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2010, 40(5): 377-87.

[7] CHEEVER M A, ALLISON J P, FERRIS A S, et al. The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(17): 5323-37.

[8] 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): 863-71.

[9] CAMERON B J, GERRY A B, DUKES J, et al. Identification of a titin-derived HLA-a1-presented peptide as a cross-reactive target for engineered MAGE a3-directed T cells [J]. *Science*, 2013, 319(5917): 197ra103.

[10] LYNN R C, EVAN W WEBER E W, SOTILLO E, et al. C-jun overexpression in CAR T cells induces exhaustion resistance [J]. *Nature*, 2019, 576(7786): 293-300.

[11] CHAN J D, SCHEFFLER C M, MUNOZ I, et al. Foxo1 enhances CAR T cell stemness, metabolic fitness and efficacy [J]. *Nature*, 2024, 629(8010): 201-10.

[12] DOAN A E, MUELLER K P, CHEN A Y, et al. Foxo1 is a master regulator of memory programming in CAR T cells [J]. *Nature*, 2024, 629(8010): 211-8.

[13] SHAFER P, KELLY L M, HOYOS V, et al. Cancer therapy with TCR-engineered T cells: current strategies, challenges, and prospects [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 835762.

[14] KLEBANOFF C A, CHANDRAN S S, BAKER B M, et al. T cell receptor therapeutics: immunological targeting of the intracellular cancer proteome [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(12): 996-1017.

[15] RAMAN M C C, RIZKALLAH P J, SIMMONS R, et al. Direct molecular mimicry enables off-target cardiovascular toxicity by an enhanced affinity TCR designed for cancer immunotherapy [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18851.

[16] LEIDNER R, SILVA N S, HUANG H, et al. Neotigen T-cell receptor gene therapy in pancreatic cancer [J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(22): 2112-9.

[17] D'ANGELO S P, ARAUJO D M, ABDUL RAZAK A R, et al. Afamitresgene autoleucel for advanced synovial sarcoma and myxoid round cell liposarcoma (spearhead-1): an international, open-label, phase 2 trial [J]. *Lancet*, 2004, 403(10435): 1460-71.

[18] D'ANGELO S P, VAN TINE B A, ATTIA S, et al. Spearhead-1: a phase 2 trial of afamitresgene autoleucel (formerly adp-a2m4) in patients with advanced synovial sarcoma or myx-

- oid/round cell liposarcoma [J]. *J Clin Oncol*, 2021, doi: 10.1200/jco.2021.39.15_suppl.11504.
- [19] D'ANGELO S P, GANJOO K N, BLAY J Y, et al. The spearhead-1 trial of afamitresgene autoleucel (afami-cel [formerly adp-a2m4]): pooled analysis of cytokine release syndrome across cohorts in patients with advanced synovial sarcoma [J]. *J Clin Oncol*, 2023, doi: 10.1200/jco.2023.41.16_suppl.e14531.
- [20] NATHAN P, HASSEL J C, RUTKOWSKI P, et al. Overall survival benefit with tebentafusp in metastatic uveal melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2021, doi: 10.1056/nejmoa2103485.
- [21] PAN Q Z, WENG D S, LIU J Y, et al. Phase 1 clinical trial to assess safety and efficacy of NY-ESO-1-specific TCR T cells in hla-a*02:01 patients with advanced soft tissue sarcoma [J]. *Cell Rep Med*, 2023, doi: 10.1016/j.xcrm.2023.101133.
- [22] 张亚静, 周鹏辉. TCR-T细胞治疗实体肿瘤的研究进展[J]. *中国细胞生物学学报*(ZHANG Y J, ZHOU P H. Progress in TCR-T cell therapy for solid tumors [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2025, 47(3): 730-41.