

T 细胞介导的精准肿瘤免疫治疗

T cell-mediated precision cancer immunotherapy

许晶¹综述;刘霞²,杨义力¹审阅(1. 中国医学科学院系统医学中心 苏州系统医学研究所,江苏 苏州 215123; 2. 第二军医大学药学院 药理学教研室,上海 200433)

[摘要] 以嵌合抗原受体-T 细胞(chimeric antigen receptor-T cell, CAR-T)治疗和卡控点(check point)阻断为代表的一系列研究和临床应用表明,自体或移植的特异 T 细胞可以清除已发生的肿瘤,标志着肿瘤免疫治疗进入了新的阶段。近期研究发现,借助于新一代测序、蛋白质组学及生物信息技术,可以鉴别出肿瘤细胞通过 MHC 提呈的突变特异性的新抗原,这些抗原或抗原组合具有高度的个体和肿瘤特异性。实验表明,新抗原能通过主动免疫在动物模型中产生抗肿瘤的作用,也可作为过继转移抗原特异性 T 细胞、TCR 转染 T 细胞和 CAR-T 所识别的目标。这些重要进展为进一步开展肿瘤临床的精准免疫治疗奠定了理论和实践基础。

[关键词] 肿瘤免疫;嵌合抗原受体;肿瘤特异性 T 细胞;新抗原

[中图分类号] R730.5; R979.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)05-0714-06

分子生物学、基因组学和生物信息学的巨大进展,催生了“精准医疗计划(precision medicine initiative)”的提出,肿瘤治疗无疑是精准医学的重要领域。基于个体肿瘤的基因组、转录组和蛋白组学特征,采取相应的特异或靶向治疗已改进了越来越多肿瘤的治疗方法。与此同时,肿瘤的免疫治疗也取得了令人瞩目的成绩,本文针对 T 细胞介导的肿瘤免疫治疗进行了总结,并探讨其与精准医学方法结合的广泛应用前景。

1 抗肿瘤免疫、T 细胞激活和免疫治疗

1.1 抗肿瘤免疫

Burnet^[1]和 Thomas^[2]首先提出机体免疫系统的生理功能之一是发挥免疫监视(immunosurveillance)功能,识别和杀伤肿瘤细胞。有研究^[3]表明,基因组结构和功能的改变,如外源 DNA 的整合、自身 DNA 的突变和重组、表观遗传学的改变等,会导致肿瘤细胞表达免疫系统识别的抗原、诱导淋巴细胞的浸润和免疫反应及记忆。研究还发现,肿瘤的形成和发展是肿瘤细胞通过与免疫系统的相互作用,最终逃避、侵袭、抑制并利用免疫反应的结果。其中包括抗原加工和提呈系统的改变,肿瘤微环境对免疫细胞激活及功能的抑制,以及免疫细胞因子对肿瘤细胞生长的影响,从而提出了肿瘤免疫编辑(cancer immunoediting)的概念。运用全外显子测序技术比较肿瘤抗原在正常小鼠和免疫缺陷小鼠中的表达,进一步证实了免疫编辑在抗肿瘤中的作

用^[4-5]。越来越多的证据显示,机体的抗肿瘤免疫反应与肿瘤的发展及患者预后密切相关。肿瘤免疫反应能够被外源性刺激增强和激活,且利用免疫机制进行肿瘤治疗,可达到高效、特异和持久的目的,极有希望成为控制晚期肿瘤的最有效的方法。

1.2 T 细胞激活与抑制

早期在小鼠的淋巴细胞过继转移实验发现,抗肿瘤免疫主要是由 T 淋巴细胞介导的。T 细胞识别的是 MHC 分子和提呈抗原肽的复合物,其抗原受体(TCR, T cell receptor)由包括识别配基的 α 、 β 链和共受体(CD4 或 CD8 分子)组成,信号传导则依赖于细胞内的多个 CD3 分子(γ 、 δ 、 ϵ 、 ζ 和 η)。其中, ζ 链的细胞内区域含多个免疫受体酪氨酸活化序列(immu-tyrosine activation motifs, ITAM),这些序列在 T 细胞激活过程中起着重要作用。此外, T 细胞表达包括 CD28、4-1BB、OX40 和 ICOS 在内的许多共刺激分子(costimulatory molecule, CM),与相应配体结合后,其主要作用是通过胞内段介导 PI3K 的激活,进而通过 Akt、NF- κ B、JNK 等信号的转导促进 T 细胞激活、避免无反应性的产生,同时抑制细胞凋

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81572378)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81572378)

[作者简介] 许晶(1985-),女,江苏苏州人,硕士,助理研究员,主要从事肿瘤免疫治疗研究,E-mail: mandy_all@163.com

[通信作者] 杨义力(YANG Yili, corresponding author),E-mail: yyl@ism.cams.cn

亡、延长 T 细胞生存^[6]。作为机体内自稳机制的表现,激活的 T 细胞表面也增加表达抑制性分子,如 CTL 相关蛋白 4(CTL associated protein 4, CTLA-4)、PD-1 和 PD-L1、Fas 和 FasL 等,以减缓或终止免疫反应。其中,CTLA-4 是 CD28 类似的免疫球蛋白家族成员,它能以更高的亲和力(10 ~ 40 ×)与 CD28 的配体 B7-1 及 B7-2 结合,阻断共刺激信号,同时传递抑制性信号到细胞内,抑制 T 细胞的激活及功能^[7]。除了激活的 T 细胞,巨噬细胞、DC、B 细胞及很多肿瘤细胞的表面也表达 PD-L1 和 FasL。PD-L1 和 PD-1 的相互作用抑制 T 细胞增生、减少细胞因子的产生,而 Fas 和 FasL 的结合则可直接诱导激活 T 细胞的凋亡。有证据^[8]表明,机体内还存在许多其他能够抑制免疫反应类似的“卡控点(check point)”分子。T 细胞免疫球蛋白黏蛋白 3(T-cell immunoglobulin and mucin containing protein-3, TIM-3)结合 Treg 表达的半乳糖结合蛋白-9(galectin-9)抑制 Th1 和 CTL 细胞功能。淋巴细胞活化基因 3(lymphocyte activation gene-3, LAG-3)是激活的 T 细胞表面表达的另一个抑制性免疫球蛋白家族成员,它能与 II 类 MHC 分子高亲和力结合,转导抑制性信号以抑制 T 细胞增生。

1.3 免疫治疗

过继转移 T 细胞在小鼠抗肿瘤中的作用、异体骨髓干细胞治疗白血病的成功以及 IL-2 的发现为采用自体 T 细胞治疗肿瘤提供了依据和可能。基于激活 T 细胞及 IL-2 的抗肿瘤作用,美国国立健康研究院癌症研究所(NCI)的 Rosenberg 实验室进行了一系列开创性工作。他们用 LAK 细胞对 25 例晚期肿瘤患者进行了治疗,其中 1 例黑色素瘤患者经治疗肿瘤达到了完全消退^[9]。进一步研究^[10]发现,体外扩增 TIL 对超过 30% 的转移性黑色素瘤有一定的疗效。改进培养技术及临床治疗方法后,激活的 TILs 可对约 50% 的黑色素瘤患者有一定的疗效,有些患者甚至可以达到完全缓解^[11]。类似的结果^[12]也在多个医学中心的临床试验中得到证实,有力地证明了过继转移 T 细胞是肿瘤免疫治疗的有效方法。值得一提的是,黑色素瘤以外的实质性肿瘤中往往不能培养出有效的 TIL,这些 T 细胞大都不具有显著的抗肿瘤作用,相关分子、细胞和免疫机制仍有待探讨。

2 过继转移抗原特异性 T 细胞的抗肿瘤作用

2.1 抗原特异性 T 细胞克隆

与众多疗效不佳的肿瘤疫苗相比,TIL 可以介

导持续有效的抗黑色素瘤作用,因而,如何使转移的 T 细胞特异地识别肿瘤细胞以提高治疗效率并且延长其有效期成为肿瘤免疫治疗研究的重点。有证据^[13]表明,黑色素瘤 TIL 含针对多种抗原的不同 T 细胞,其识别的很多抗原来自肿瘤细胞表达的突变蛋白。外显子突变率分析发现,黑色素瘤是含突变最多的癌细胞之一^[14],这可能是相应 TIL 能产生治疗作用的重要原因。大量的研究试图从多种肿瘤的 TIL 中发现、扩增出识别肿瘤特异性抗原的 T 细胞以获得更好的疗效。Tran 等^[15]在 1 例胆管癌患者的研究中发现,将编码多个肿瘤细胞突变多肽的 mRNA 转染至抗原提呈细胞后,能够诱导培养出癌组织 TIL 中识别突变蛋白 ERBB2IP 的 CD4⁺ T 细胞克隆,将这些 CD4⁺ T 细胞回输入患者体内后能够维持其肝和肺部转移的肿瘤消退达 1 年以上。子宫颈癌的研究^[16]也发现,用识别 HPV 蛋白的 TIL 治疗,可使远处转移的肿瘤完全消退。因此,过继转移抗原特异的 T 细胞克隆可以产生有效的抗实体瘤作用。

从外周血中获取识别肿瘤相关抗原的 T 细胞克隆进行免疫治疗应用于临床将更理想、更适用。临床试验^[17]表明,靶向 EB 病毒的多种 T 细胞克隆对病毒感染以及 EB 病毒相关的淋巴细胞增生、淋巴瘤和鼻咽癌均有显著的疗效。在其他实体瘤的治疗方面,黑色素瘤抗原 NY-ESO-1 特异性 CD4⁺ T 细胞在临床试验中有一定的治疗效果。患者体内诱导出了针对其他肿瘤抗原的免疫反应,提示输入的 T 细胞可能通过多种机制产生抗肿瘤作用^[18]。此外,识别 hTERT、生存蛋白(Surviving)、WT1 等抗原的 T 细胞克隆也进入了临床研究^[19]。值得注意的是,利用 CTLA-4、PD-1 和 PD-L1 的抗体阻断卡控点消除机体的免疫抑制效应,实现了对多种实体瘤的治疗,治疗后 10% ~ 30% 的患者中能诱导肿瘤的消退,取得了令人瞩目的成功^[20]。基因组和生物信息学分析指出,这些抗体激活的 TIL 能识别多种突变蛋白,从而发挥抗肿瘤作用^[21]。有证据^[22]表明,TIL 的治疗效果与其识别多种肿瘤细胞的突变蛋白,避免肿瘤细胞的免疫逃逸有密切关系。因此,过继转移 T 细胞的抗肿瘤作用依赖于 T 细胞表达合适的抗原受体或者 T 细胞群体表达多种识别肿瘤的抗原受体。

2.2 表达特异抗原受体的 T 细胞

从肿瘤组织中克隆出抗原特异性 T 细胞是一项耗时的技术挑战,且成功率不高,这些难点限制了过继 T 细胞治疗的广泛应用。临床前研究表明,转

染识别特异抗原 TCR 是产生抗肿瘤 T 细胞的一个有效方法。由于 TCR 和相应配体亲和力较低(T 细胞发育过程中的负选择会清除较高亲和力 TCR),加之肿瘤细胞常常伴随 MHC 表达的降低,因而从自体 T 细胞中克隆的 TCR 往往不能直接采用。还有实验^[23]表明,转染的 TCR 和 亚基可能会和 T 细胞内源的受体基因重组,影响转染 TCR 的表达及特异性。多个实验室分别采用改变 TCR 结构(以增强亲和力)修饰 TCR 的跨膜区序列、制备单链 TCR、减少内源 TCR 表达等方法制备 TCR 转染的特异 T 细胞。Morgan 等^[24]首先报告,用识别 MART1 及 gp100 抗原的高亲和力 TCR 转染 T 细胞,过继转移后能够在部分患者中导致转移性黑色素瘤的消退。然而临床试验中发现这些 T 细胞也可识别患者皮肤和视网膜中的黑色素细胞,引起严重的非肿瘤靶向毒性^[25]。与此类似,用转染高亲和力识别癌胚抗原 TCR 的 T 细胞治疗 3 例直肠癌时发现,过继转移可以使血中癌胚抗原显著降低,1 例患者甚至表现出肝和肺转移肿瘤的消退,但所有患者均出现了严重的出血性肠炎^[26]。过继转移识别 MAGE-A3 TCR 转染 T 细胞的临床试验发现,多数患者中有一定的肿瘤消退,但出现了和脑灰质抗原的交叉反应^[27]。与这些不成功的案例相比,识别肿瘤相关抗原 NY-ESO-1 的高亲和力 TCR 在临床上取得了显著的成功。在转移性黑色素瘤和滑膜肉瘤患者进行的试验表明,表达这种 TCR 的 T 细胞过继转移对半数以上的患者有显著疗效,患者生存期显著延长,有些患者的肿瘤完全消退^[28]。另一临床研究^[29]发现,在自体骨髓干细胞移植的患者中,该 TCR 转染的 T 细胞对高达 80% 的 NY-ESO-1 阳性骨髓瘤有疗效。因此,过继转移特异性 TCR 转染的 T 细胞可以进行有效的抗肿瘤治疗,但需要选择合适的抗原和相应的 TCR,注意肿瘤细胞的 MHC 表达及 MHC 限制。发现识别肿瘤突变抗原(新抗原)的 TCR 无疑成为了肿瘤治疗今后值得努力的方向。如果能鉴别出识别多种肿瘤共有突变的 TCR,将能够提供更广泛的临床应用价值。

2.3 表达嵌合抗原受体的 T 细胞

发现高亲和力特异 TCR 的挑战性以及 TCR 识别抗原 MHC 限制性,催生了 T 细胞利用特异抗体的可变区识别抗原的一系列研究。第 1 代嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)由单链抗体可变区(scFv)和 ζ 链等含 ITAM 的信号转导分子链融合而成,使 T 细胞不受 MHC 的限制而能够被细胞表面抗原激活。表达这类 CAR 的 T 细胞(CAR-T)

虽然在体外和动物模型中能特异地识别表达特异抗原的靶细胞,并在激活后产生杀伤肿瘤细胞的作用,但其临床试验均未达到预期的效果。改进了的第 2 代和第 3 代 CAR 中分别加入了 1 和 2 个 T 细胞共刺激分子(如 CD28、4-1BB)的信号转导序列,CAR-T 的激活、生存时间和在动物模型的抗肿瘤作用均显著增强。参与 B 细胞的发育和激活的辅助受体 CD19 表达于大多数恶变 B 细胞(淋巴瘤、白血病)表面,令人瞩目的是在临床试验中,抗 CD19 CAR-T 对 CD19 阳性的急性淋巴细胞白血病的有效率可达 90% 左右,对慢性 B 细胞白血病或淋巴瘤的有效率也超过 50%^[30]。这些发现,使以 CAR-T 为基础的免疫治疗成为研究、试验的重点与热点。

许多识别其他细胞表面分子的 CAR-T 也进入了早期临床试验,其中包括血液系统肿瘤的 CD20、CD22、CD30 和 CD33;B 细胞成熟抗原以及实体瘤细胞的表面标志,如 Her2、CEA、PSMA、GD-2 和间皮素等。越来越多的数据^[31]表明,针对血液系统的 CAR-T 大多有不同程度的疗效,而靶向实体瘤的 CAR-T 则往往无治疗作用,或是有严重的毒副作用。值得注意的是,人体 EB 病毒特异的 T 细胞回输体内后可以长期存活,由这种 T 细胞转染 CAR 后产生的针对神经母细胞瘤表面抗原 GD-2 的 CAR-T 能在过半数患者中抑制肿瘤的生长,并在若干患者中使肿瘤完全消退,这说明选择合适的 T 细胞产生 CAR-T 对其抗肿瘤作用有重要影响。体外和动物研究还发现,T 细胞的分化程度和亚群特性、Treg 的存在、T 细胞端粒的长度以及 T 细胞的激活方式均对 CAR-T 的抗肿瘤作用有重要影响。

目前,许多研究已着眼于 CAR-T 过继转移治疗中毒副作用的减少和治疗效率的提高。利用 mRNA 转染产生 CAR-T,可以避免外源性 DNA 整合入细胞基因组内,使得 CAR 不在循环 T 细胞中持续表达,有助于减少靶向非肿瘤细胞所致的毒副作用。在 CAR-T 细胞中引入“自杀”基因如单纯疱疹病毒胸腺嘧啶激酶,使其能够被及时清除是另一个减少毒副作用的方法。此外,针对肿瘤细胞上的两个靶点(如 CD19 和 IL-3 受体),采用双靶向治疗以增加 CAR-T 识别的特异性也可能成为降低非特异的毒副作用的有效方法。另一个值得考虑的方面是,许多实体瘤中有淋巴细胞的浸润,肿瘤中心和外周淋巴细胞的存在对患者预后有不同的影响,因此如何使 CAR-T 有效地进入肿瘤组织、克服肿瘤微环境中对淋巴细胞的抑制作用可能是有效治疗实体肿瘤的关键环节。可以预料,同时表达或敲除多个分子,帮

助 CAR-T 进入淋巴组织,抵抗肿瘤细胞的抑制作用是进一步采用的方向。CAR-T 治疗的另一个局限性是必须将患者自体 T 细胞转染扩增后用于治疗。有研究^[32]表明,可以通过基因组编辑的方法敲除异体细胞的抗原受体,使其不能发挥移植抗宿主作用,由这种 T 细胞产生的 CAR-T 有望用于多个患者。

3 靶向新抗原:肿瘤的精准免疫治疗

30 多年来的肿瘤免疫治疗研究和临床试验表明,通过激活自身淋巴细胞或是过继转移 T 细胞可以有效地治愈恶性肿瘤。免疫治疗所识别的抗原包括肿瘤细胞表达的胚胎或组织特异性抗原(如癌胚抗原、NY-ESO-1)、肿瘤细胞高表达的蛋白(如 Her2、CD19)、肿瘤细胞表达的病毒蛋白(如 EBV 和 HPV 编码的蛋白质),以及肿瘤细胞基因改变所产生的突变蛋白(如 K-Ras 和 P53)等。实践证明,发现合适的靶抗原是抗原特异性 T 细胞克隆、TCR 或 CAR 转染的 T 细胞成功治疗的首要前提和最重要的挑战。

随着新一代测序技术的发展,测定每个肿瘤细胞外显子和预测编码的突变蛋白已得到广泛应用。NIH 主导的肿瘤细胞基因组图谱和其他测序研究发现,常见的恶性肿瘤如肺癌、结直肠癌中有大量不同的基因和蛋白质突变,并且同类肿瘤不同患者之间也存在很多不同的突变。例如,Segal 等^[33]从乳腺癌和肠癌中发现了 1 152 个编码蛋白的突变。基于 MHC I 类分子的结构,推测每个肿瘤可提呈 7~10 个独特突变肽。采用类似的方法^[34-35]发现,由小鼠肿瘤细胞中鉴别的许多含突变的肽段均能够在体外激活淋巴细胞,且在动物产生有效的抗肿瘤免疫,人黑色素瘤和胃肠道肿瘤中也发现了能够为 TIL 识别的突变肽段^[13,36]。还有实验^[37]发现,在 CTLA-4 有效治疗的患者中,TIL 识别突变肽的群体数量显著增加。为进一步证实这些突变肽是否可作为免疫治疗的靶点,Gubin 等^[21]和 Yadav 等^[38]分析了不同化学方法诱导的小鼠肿瘤的全基因组,经鉴别发现突变肽是小鼠免疫反应的靶点,突变肽疫苗可以有效的治疗原发肿瘤。在黑色素瘤和小鼠肿瘤中的研究^[39-40]发现,许多突变肽是由 II 类 MHC 提呈的,诱导以 CD4⁺ 细胞为主的免疫反应,且编码这些新抗原的 mRNA 可以在小鼠体内诱导有效的抗肿瘤免疫^[39]。总之,越来越多的证据表明,肿瘤细胞能够提呈突变的抗原肽为机体的免疫系统所识别,诱导抗肿瘤免疫反应,因而这些提呈的突变肽也称作新

抗原。有理由相信,由于新抗原仅在肿瘤细胞中表达,并没有参加淋巴细胞发育中的负选择过程,机体淋巴细胞更容易产生高亲和力的 TCR 与之结合并触发高效的免疫应答,故这些新抗原将成为抗肿瘤免疫治疗的理想靶点。同时,新抗原具有高度的个体化特征,极有可能成为基于基因组分析而开展个体化精准治疗的新范例。鉴于卡控点抗体治疗的有效率不到 30%,新抗原及相应 T 细胞的检测将会成为这类疗法的生物标志物,指导选择有效的抗肿瘤和监测手段^[41-42]。

4 展 望

与常规化疗和放疗在肿瘤治疗中常伴随的低有效率和高毒副作用的情况相比,免疫治疗具有高效、特异和持久的特性,是改善晚期恶性肿瘤患者预后的希望所在,因而成为肿瘤研究的一个重要领域。抗原特异性 T 细胞以及 TCR-T 和 CAR-T 的研究和临床实践表明,靶向抗原的选择是免疫治疗能否达到高效、低毒和可行的关键因素。肿瘤细胞新抗原的发现和鉴别无疑为这些特异性的 T 细胞过继转移治疗提供了更加广阔的应用前景。已有研究^[15]发现,采用编码新抗原的 mRNA、病毒、细菌等转染或感染抗原提呈细胞,可在体外、体内激活 T 细胞,以达到抗肿瘤免疫治疗的作用。另一类方法是通过测序和分析发现新抗原后,制备相应的 MHC-多肽四聚体,识别和分离外周血及 TIL 中的抗原特异性 T 细胞^[43]。这些 T 细胞扩增后是否可以用于过继转移治疗或培养出抗原特异的 TCR 克隆仍然有待进一步的研究。通过抗体基因工程技术制备识别 MHC 和抗原肽的 TCR 样抗体或 scFv,进而产生 CAR-T 以特异地识别、杀伤肿瘤细胞有可能成为一种新的有效方法^[44],为 CAR-T 介导的肿瘤免疫治疗提供新的契机。

[参 考 文 献]

- [1] BURNET F M. The concept of immunological surveillance [J]. *Prog Exp Tumor Res*, 1970, 13:1-27. DOI: 10.1159/000384035.
- [2] THOMAS L. On immunosurveillance in human cancer [J]. *Yale J Biol Med*, 1982, 55(3-4): 329-333.
- [3] FRIDMAN W H, PAGES F, SAUTES-FRIDMAN C, et al. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 298-306. DOI:10.1038/nrc3245.
- [4] DUPAGE M, MAZUMDAR C, SCHMIDT L M, et al. Expression of tumour-specific antigens underlies cancer immunoeediting [J]. *Nature*, 2012, 482(7385): 405-409. DOI: 10.1038/nature10803.

- [5] MATSUSHITA H, VESELY M D, KOBOLDT D C, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoeediting [J]. *Nature*, 2012, 482(7385): 400-404. DOI: 10.1038/nature10755.
- [6] SMITH-GARVIN J E, KORETZKY G A, JORDAN M S. T cell activation [J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 591-619 [2016-07-28]. <http://www.ncbi.nlm.gov/pmc/articles/BMC2740335/>. DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132706.
- [7] ALEGRE M L, FRAUWIRTH K A, THOMPSON C B. T cell regulation by CD28 and CTLA-4 [J]. *Nat Rev Immunol*, 2001, 1(3): 220-228. DOI:10.1038/35105024.
- [8] ZHU C, ANDERSON A C, SCHUBART A, et al. The Tim-3 ligand and galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(12): 1245-1252. DOI:10.1038/ni1271.
- [9] ROSENBERG S A, LOTZE M T, MUUL L M, et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer [J]. *N Engl J Med*, 1985, 313(23): 1485-1492. DOI:10.1056/NEJM198512053132327.
- [10] ROSENBERG S A, YANNELLI J R, YANG J C, et al. Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin 2 [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1994, 86(15): 1159-1166. DOI: 10.1093/jnci/86.15.1159.
- [11] ROSENBERG S A, DUDLEY M E. Cancer regression in patients with metastatic melanoma after the transfer of autologous antitumor lymphocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(Suppl 2): 14639-14645. DOI:10.1073/pnas.0405730101.
- [12] BESSER M J. Is there a future for adoptive cell transfer in melanoma patients? [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(10): e26098 [2016-07-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3862631/>. DOI:10.4161/onci.26098.
- [13] ROBBINS P F, LU Y C, EL-GAMIL M, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells [J]. *Nat Med*, 2013, 19(6): 747-752. DOI:10.1038/nm.3161.
- [14] LAWRENCE M S, STOJANOV P, POLAK P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes [J]. *Nature*, 2013, 499(7457): 214-218. DOI:10.1038/nature12213.
- [15] 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): 641-645. DOI:10.1126/science.1251102.
- [16] STEVANOVIC S, DRAPER L M, LANGHAN M M, et al. Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus-targeted tumor-infiltrating T cells [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(14): 1543-1550. DOI:10.1200/JCO.2014.58.9093.
- [17] ICHEVA V, KAYSER S, WOLFF D, et al. Adoptive transfer of Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1-specific T cells as treatment for EBV reactivation and lymphoproliferative disorders after allogeneic stem-cell transplantation [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(1): 39-48. DOI:10.1200/JCO.2011.39.8495.
- [18] HUNTER N N, WALLEEN H, CAO J, et al. Treatment of metastatic melanoma with autologous CD4⁺ T cells against NY-ESO-1 [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(25): 2698-2703. DOI:10.1056/NEJMoa0800251.
- [19] MANZO T, HESLOP H E, ROONEY C M. Antigen-specific T cell therapies for cancer [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(R1): R67-73. DOI:10.1093/hmg/ddv270.
- [20] TUMEH P C, HARVIEW C L, YEARLEY J H, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 568-571. DOI:10.1038/nature13954.
- [21] GUBIN M M, ZHANG X, SCHUSTER H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581. DOI:10.1038/nature13988.
- [22] KLEBANOFF C A, ACQUAVELLA N, YU Z, et al. Therapeutic cancer vaccines: are we there yet? [J]. *Immunol Rev*, 2011, 239(1): 27-44. DOI:10.1111/j.1600-065X.2010.00979.x.
- [23] KERSHAW M H, WESTWOOD J A, DARCY P K. Gene-engineered T cells for cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(8): 525-541. DOI:10.1038/nrc3565.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] MAUDE S L, FREY N, SHAW P A, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(16): 1507-1517. DOI: 10.1056/NEJMoa1407222.
- [31] LOUIS C U, SAVOLDO B, DOTTI G, et al. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in

- patients with neuroblastoma [J]. *Blood*, 2011, 118(23): 6050-6056. DOI:10.1182/blood-2011-05-354449.
- [32] POIROT L, PHILIP B, SCHIFFER-MANNIOUI C, et al. Multiplex genome-edited T-cell manufacturing platform for “off-the-shelf” adoptive T-cell immunotherapies [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(18): 3853-3864. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-3321.
- [33] SEGAL N H, PARSONS D W, PEGGS K S, et al. Epitope landscape in breast and colorectal cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(3): 889-892. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-3095.
- [34] CASTLE J C, KREITER S, DIEKMANN J, et al. Exploiting the mutanome for tumor vaccination [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(5): 1081-1091. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-11-3722.
- [35] CREANEY J, MA S, SNEDDON S A, et al. Strong spontaneous tumor neoantigen responses induced by a natural human carcinogen [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(7): e1011492 [2016-07-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4485777/>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1011492.
- [36] TRAN E, AHMADZADEH M, LU Y C, et al. Immunogenicity of somatic mutations in human gastrointestinal cancers [J]. *Science*, 2015, 350(6266): 1387-1390. DOI:10.1126/science.aad1253.
- [37] VAN ROOIJ N, VAN BUUREN M M, PHILIPS D, et al. Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an ipilimumab-responsive melanoma [J/OL]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(32): e439-442 [2016-07-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC38362201>. DOI: 10.1200/JCO.2012.47.7521.
- [38] YADAV M, JHUNJHUNWALA S, PHUNG Q T, et al. Predicting immunogenic tumour mutations by combining mass spectrometry and exome sequencing [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 572-576. DOI:10.1038/nature14001.
- [39] KREITER S, VORMEHR M, VAN DE ROEMER N, et al. Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune responses to cancer [J]. *Nature*, 2015, 520(7549): 692-696. DOI:10.1038/nature14426.
- [40] LINNEMANN C, VAN BUUREN M M, BIES L, et al. High-throughput epitope discovery reveals frequent recognition of neo-antigens by CD4⁺ T cells in human melanoma [J]. *Nat Med*, 2015, 21(1): 81-85. DOI:10.1038/nm.3773.
- [41] RIZVI N A, HELLMANN M D, SNYDER A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Science*, 2015, 348(6230): 124-128. DOI:10.1126/science.aaa1348.
- [42] VAN ALLEN E M, MIAO D, SCHILLING B, et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma [J]. *Science*, 2015, 350(6257): 207-211. DOI:10.1126/science.aad0095.
- [43] COHEN C J, GARTNER J J, HOROVITZ-FRIED M, et al. Isolation of neoantigen-specific T cells from tumor and peripheral lymphocytes [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(10): 3981-3991. DOI: 10.1172/JCI82416.
- [44] ZHAO Q, AHMED M, TASSEV D V, et al. Affinity maturation of T-cell receptor-like antibodies for Wilms tumor 1 peptide greatly enhances therapeutic potential [J]. *Leukemia*, 2015, 29(11): 2238-2247. DOI: 10.1038/leu.2015.125.

[收稿日期] 2016 - 03 - 26

[修回日期] 2016 - 08 - 27

[本文编辑] 党瑞山