

· 综述 ·

以 T 细胞受体为基础的免疫疗法研究进展

陈缘^{1,2}, 高福^{1,2,3*}, 谭曙光^{2,3*}

1 广西医科大学 再生医学与医用生物资源开发应用省部共建协同创新中心, 广西 南宁 530021

2 中国科学院微生物研究所 病原微生物与免疫学重点实验室, 北京 100101

3 中国科学院大学存济医学院, 北京 100049

陈缘, 高福, 谭曙光. 以 T 细胞受体为基础的免疫疗法研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(10): 4004-4028.

CHEN Yuan, GAO George F., TAN Shuguang. T cell receptor-based immunotherapy: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(10): 4004-4028.

摘要: T 细胞是机体抗肿瘤免疫的核心, 以 T 细胞功能调控为基础的免疫检查点疗法已经在多种肿瘤的临床治疗中取得了重大突破, 以基因工程化 T 细胞为基础的过继性免疫细胞疗法在血液瘤治疗中取得了重要进展, 免疫治疗已经对肿瘤的临床治疗产生了深刻变革, 成为肿瘤临床治疗策略的重要组成部分。T 细胞受体(T cell receptor, TCR)赋予了 T 细胞识别肿瘤抗原的特异性, 能够识别由主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)呈递的包括胞内抗原在内的广泛肿瘤抗原, 具有高度的抗原敏感性, 因而具有广泛的抗肿瘤应用前景。2022 年第一款 TCR 药物的上市开启了 TCR 药物开发的新纪元, 多项 TCR 药物临床研究表现出潜在的肿瘤治疗价值。本文综述了以 TCR 为基础的免疫治疗策略研究进展, 包括 T 细胞受体工程化 T 细胞(T cell receptor-engineered T cell, TCR-T)和 TCR 蛋白药物, 以及基于 TCR 信号的其他免疫细胞疗法, 以期为以 TCR 为基础的免疫治疗策略开发提供参考。

关键词: T 细胞受体; 免疫治疗; T 细胞受体工程化 T 细胞; T 细胞衔接器

资助项目: 国家自然科学基金(32222031)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32222031).

*Corresponding authors. E-mail: TAN Shuguang, tansg@im.ac.cn; GAO George F., gaof@im.ac.cn

Received: 2023-04-17; Accepted: 2023-05-26; Published online: 2023-05-30

T cell receptor-based immunotherapy: a review

CHEN Yuan^{1,2}, GAO George F.^{1,2,3*}, TAN Shuguang^{2,3*}

1 Collaborative Innovation Centre of Regenerative Medicine and Medical Bioresource Development and Application Co-constructed by the Province and Ministry, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China

2 Key Laboratory of Pathogen Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

3 Savaid Medical School, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: T cells play central roles in anti-tumor immune responses. Immune checkpoint therapy, which is based on modulation of T cell reactivity, has achieved breakthrough in clinical treatment of multiple tumors. Moreover, adoptive T cell therapy, which includes mainly genetically engineered T cells, has shown substantial treatment efficacy in hematoma. Immune therapy has tremendously changed the scenario of clinical tumor treatment and become critical strategies for treating multiple tumors. T cell receptor (TCR) is the fundamental molecule responsible for the specificity of T cell recognition. TCRs could recognize peptides, which are derived from intracellular or extracellular tumor antigens, presented by major histocompatibility complex (MHC) and are therefore highly sensitive to low antigen level. Thereby, TCRs are broadly recognized as promising molecules for the development of anti-tumor drugs. The approval of the first TCR drug in 2022 has initiated a new era for TCR-based therapeutics and since then, multiple TCR drugs have shown substantial treatment efficacy in multiple tumors. This review summarizes the progress of TCR-based immune therapeutic strategies, including T cell receptor-engineered T cell (TCR-T), TCR-based protein drugs, and other cell therapies based on TCR signaling, providing useful information for future design of immune therapeutics based on TCR.

Keywords: T cell receptor; immunotherapy; T cell receptor-engineered T cell; T cell engager

世界卫生组织国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)发布的2020年全球最新癌症负担数据显示,全球新发癌症病例1 929万例,死亡病例996万例,其中,中国新发癌症457万人,在全球癌症新发患者中的占比达到了23.7%;新增癌症死亡病例300万例,占全球30%,位居全球第一^[1]。在肿瘤免疫疗法出现之前,传统的手术、放射治疗、化疗是肿瘤治疗的主要手段。手术切除常作为扩散风险较小的原位癌的最佳治疗方案,但如果肿瘤不能彻底切除或癌细胞转移至

其他组织,肿瘤复发概率将大幅增加。放化疗在杀伤癌细胞的同时,对正常组织细胞也会造成损伤。肿瘤免疫疗法通过重塑机体抗肿瘤免疫从而发挥肿瘤治疗效果,与传统疗法相比,特异性高而副作用相对较小^[2]。肿瘤免疫疗法主要包括免疫检查点疗法(immune checkpoint therapy, ICT)、过继性细胞疗法(adoptive cell therapy, ACT)、溶瘤病毒疗法(oncolytic virus therapy, OVT)、双特异性T细胞衔接器(bispecific T cell engagers, BiTE)和癌症疫苗等^[3]。1984年,Rosenberg等^[4]发现在IL-2刺激下小鼠脾脏淋巴

细胞能够发挥强大的杀伤功能,他们将淋巴因子激活的杀伤细胞(lymphokine-activated killer cells, LAK)与 IL-2 联合输注到黑色素瘤肺转移的小鼠体内,显著提高了荷瘤小鼠的存活率。与 LAK 细胞相比,肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)具有更强的杀伤肿瘤细胞效果,且特异性更高。1986年, Rosenberg 等^[5]在 12 只结肠癌细胞(MC38)荷瘤小鼠模型中评估了 TIL 的抗肿瘤效果,在 TIL 和 IL-2 的联合作用下,晚期肿瘤细胞经肺部转移的小鼠治愈率达 50%,经肝脏转移的小鼠治愈率可达 100%。1988年, Topalian 等^[6]在人体中评估了 TIL 的抗肿瘤功能,他们将 IL-2 培养扩增的 TIL 输注到 6 名黑色素瘤、4 名肾细胞癌、1 名乳腺癌和 1 名结肠癌患者体内。其中,1 名黑色素瘤患者的肺部和纵隔肿块消退;1 名肾细胞癌患者的淋巴结肿块消退;1 名乳腺癌患者的淋巴结和皮肤部位的疾病部分消退,胸腔积液中的恶性细胞完全消除。这些早期研究为以 T 细胞为基础的肿瘤免疫治疗研究提供了重要基础。TIL 疗法首先需要切除患者的肿瘤组织,在体外分离出能特异性杀伤肿瘤细胞的 TIL 细胞,经大量扩增培养后再回输至患者体内。目前, TIL 疗法已经应用于卵巢癌、黑色素瘤、肺癌等肿瘤的临床治疗研究,但也面临着一些挑战,例如,肿瘤浸润性淋巴细胞仅在部分肿瘤患者中具有较高数量;TIL 的制备周期较长,体外扩增过程大约需要 5-7 周;且其体外扩增效率和抗肿瘤活性存在较大个体差异^[7]。

通过基因工程手段将嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)基因或者 TCR 基因导入到离体 T 细胞中,即 CAR-T 或 TCR-T 细胞。经体外扩增培养后回输至患者体内, CAR-T 或 TCR-T 细胞通过其胞外特异性受体识别肿瘤细胞,继而激发 T 细胞活性并杀伤肿瘤细胞。目

前有多款 CAR-T 细胞药物上市,基于 TCR 的免疫疗法近年来也取得了一系列重要进展。与 CAR-T 细胞通过胞外抗体可变区结构域识别肿瘤细胞表面抗原不同, TCR 能够识别由 MHC 分子呈递的胞内或胞外抗原^[8-9](图 1)。在人类肿瘤抗原库中,膜表面蛋白仅仅是冰山一角,胞内抗原占比高达 73%^[3],因此, TCR 相关药物能够靶向更为广泛的肿瘤抗原。本文综述了以 TCR 为基础的免疫治疗策略(图 2)及临床研究进展情况,主要包括通过基因工程技术手段将外源性 TCR 基因导入离体 T 细胞的 TCR-T 细胞药物,以及基于 TCR 靶向性的 T 细胞衔接器(T cell engager, TCE)蛋白药物,以期为以 TCR 为基础的免疫治疗药物开发提供参考。

1 TCR 介导的 T 细胞信号传导

TCR 是由 α/β 链或 γ/δ 链构成的异源二聚体,人外周血中约 95%的 T 细胞表达的 TCR 由 α/β 链组成,5%的外周血 T 细胞的 TCR 由 γ/δ 链组成^[14]。 α/β TCR 的每条链分别由可变区(variable domain, V 区)和恒定区(constant domain, C 区)组成, V 区参与多肽-MHC (peptide-MHC, pMHC)复合物的识别, C 区负责正确的复合物组装并通过跨膜区锚定在 T 细胞膜上,通过跨膜区与 CD3 不同亚基共同组成 TCR-CD3 复合物^[9,15]。TCR α 链 V 区由 V 和 J 基因片段组成, β 链 V 区由 V、D、J 基因片段组成。V 区中的 3 个互补决定区(CDR1、CDR2、CDR3)是 TCR 识别 pMHC 的关键区域。CDR1 和 CDR2 区仅由 V 基因编码,而 CDR3 区跨越了 V (D) J 基因连接区域。V (D) J 基因的重排和连接多样性以及随机插入的碱基序列共同赋予了 CDR3 区的高度多样性,这是构成 TCR 库多样性的主要原因。此外,不同 α 链和 β 链间的随机配对进一步丰富了 TCR 库的多样性^[16-17]。

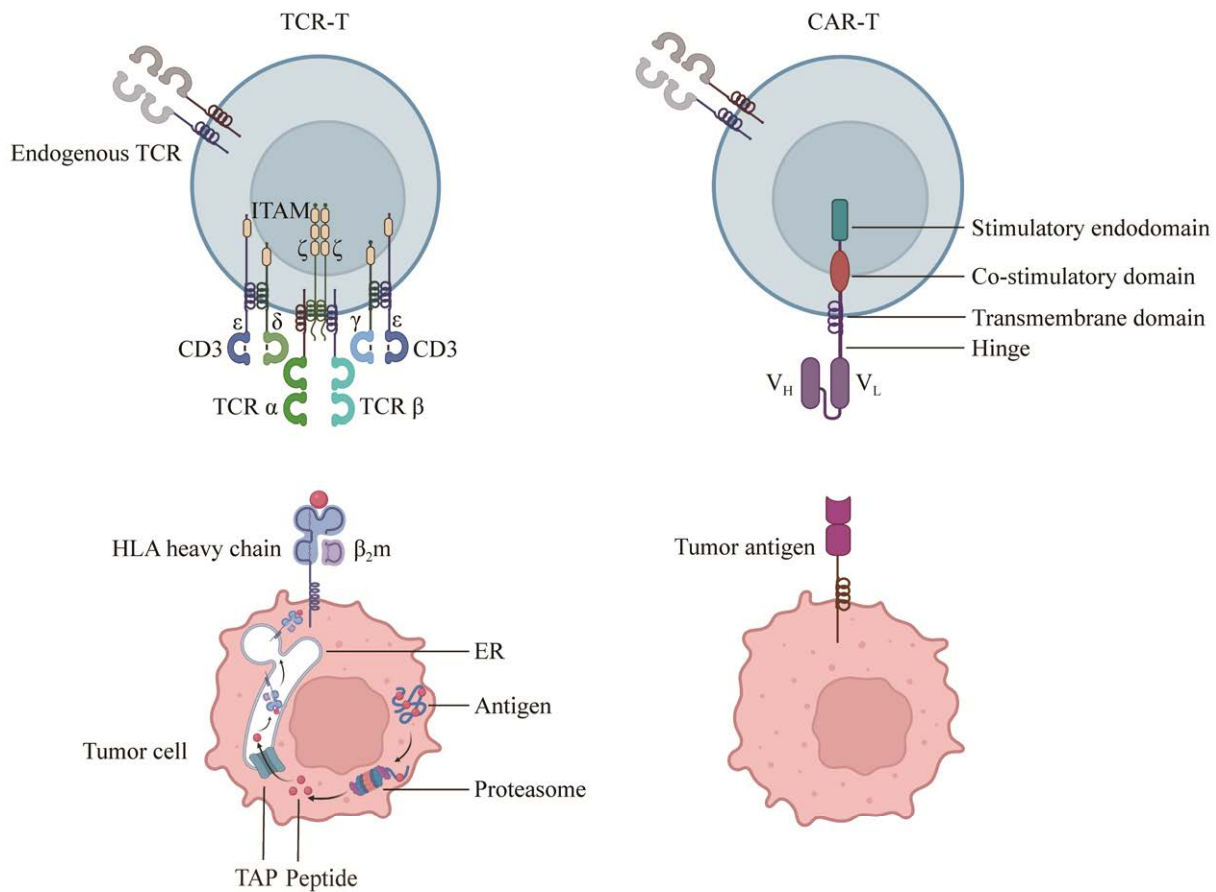


图 1 TCR-T 疗法与 CAR-T 疗法^[10-12]

Figure 1 Schematic diagram of TCR-T therapy and CAR-T therapy^[10-12]. ER: Endoplasmic reticulum; TAP: Transporters associated with antigen processing. The image-producing software is BioRender.

T 细胞的活化需要 3 种信号。首先, TCR 识别 pMHC 复合物, 这是 T 细胞活化的第一信号, 决定了 T 细胞免疫应答的特异性^[18]。其次, 激活 T 细胞还需要多对共刺激分子间受体/配体相互作用提供的第二信号, 如 CD28 与 CD80/86 分子、4-1BB 与 4-1BBL 分子间的相互作用等。第三, T 细胞表面的细胞因子受体结合 IL-2、IL-12 等细胞因子提供了 T 细胞活化的第三信号^[19], 肿瘤微环境中的自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)和树突状细胞(dendritic cell, DC)产生的 IFN- γ 、IL-12、IL-15 等细胞因子对 T 细胞活化起着关键作用^[20-21]。T 细胞活化后,

其细胞表面表达的趋化因子受体(chemokine receptor, CR)与抗原呈递细胞(antigen-presenting cell, APC)分泌的趋化因子(chemokine, CK)结合, T 细胞被募集至肿瘤微环境发挥抗肿瘤作用^[22-23]。

TCR 特异性识别抗原后, 有关抗原结合的数量和质量的信息进一步传入 T 细胞内^[14]。TCR 的胞内结构域较短, 其信号转导在很大程度上依赖于 CD3 分子^[15]。TCR-CD3 八聚体复合物由膜表面二聚体 TCR $\alpha\beta$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 、CD3 $\delta\epsilon'$ 和胞内 CD3 $\zeta\zeta'$ 组装而成^[24]。研究发现 TCR-CD3 复合物在细胞膜上的存在形式包括单体和多聚

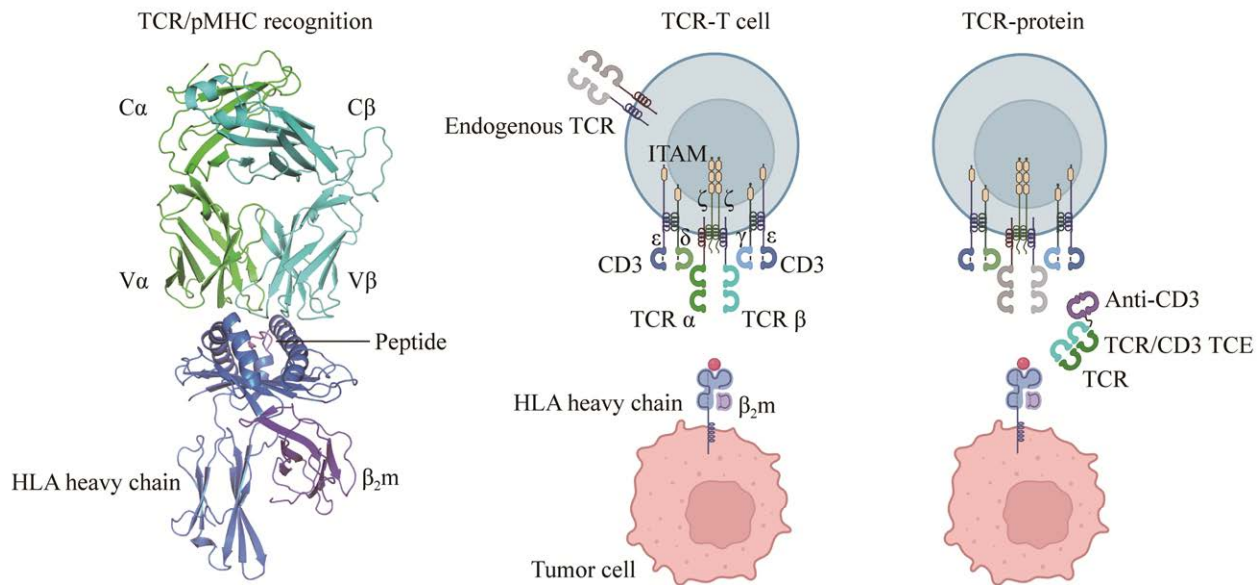


图 2 以 TCR 为基础的肿瘤免疫疗法^[12-13]

Figure 2 TCR-based tumor immunotherapy^[12-13]. C α : TCR alpha constant region; V α : TCR alpha variable region; C β : TCR beta constant region; V β : TCR beta variable region; Anti-CD3: CD3 single-chain antibody; TCE: T cell engager. The structure of TCR-pMHC complex is derived from PDB 8I5C. The image-producing software is BioRender.

体,且在质膜和内体间呈现动态循环状态^[25]。TCR $\alpha\beta$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 、CD3 $\delta\epsilon'$ 在核糖体中过量合成并被转移至内质网中进行组装,但只有在 CD3 ζ 链参与时才能被转运至高尔基体完成组装,进而在质膜上稳定表达。此外,CD3 ζ 链与 TCR 和 CD3 其他亚基的降解和运输并不完全同步^[26]。CD3 γ 、 ϵ 、 δ 和 ϵ' 链各含有 1 个免疫受体酪氨酸的激活基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM), CD3 ζ 链含有 3 个 ITAM,即一个 CD3 复合物分子共含有 10 个 ITAM^[27]。TCR 在与抗原特异性 pMHC 结合后会触发 TCR-CD3 复合物的构象变化,从而激活淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(lymphocyte-specific protein tyrosine kinase, LCK),对 CD3 亚基中的 ITAM 进行磷酸化。共刺激信号受体/配体(如 CD28 与 CD80/86 分子)之间的相互作用导致 CD4/CD8 共受体被募集至 T 细胞与 APC 细胞相互作用界

面。CD4/CD8 共受体与 TCR/pMHC 的结合促进 LCK 磷酸化 CD3 亚基中的 ITAM,进一步导致蛋白酪氨酸激酶 ZAP70 募集到 TCR 中,并促进 LCK 激活 ZAP70^[28]。在这些 T 细胞活化近端信号的影响下, Ca²⁺-calcineurin-NFAT、PKC θ -IKK-NF κ B、RASGRP1-RAS-ERK1/2 和 TSC1/2-mTOR 等远端信号通路被激活,进一步协调 T 细胞的活化、增殖、迁移和细胞因子分泌等^[29]。

2 基于 TCR 的免疫疗法

TCR 一方面能够通过其可变区与 pMHC 相互作用,介导 T 细胞特异性靶向靶细胞,另一方面能够通过其恒定区和跨膜区募集 CD3 各亚基,传导 T 细胞激活信号。目前基于 TCR 的药物开发主要包括细胞药物和蛋白药物两种形式。细胞药物主要为将 TCR 基因导入 T 细胞的

TCR-T 细胞疗法; 蛋白药物主要为 T 细胞衔接器蛋白, 即 TCR 蛋白与 CD3 激活型抗体的融合蛋白。下面主要概述不同 TCR 药物的特点和研究进展情况。

2.1 TCR-T 细胞疗法

由于肿瘤微环境独特的生化和物理条件及多种免疫抑制型细胞亚群的共同作用, 在肿瘤微环境中的肿瘤浸润淋巴细胞数量较少, 且往往处于免疫抑制状态。经基因工程改造的 T 细胞(CAR-T 和 TCR-T)能够进行体外大量扩增培养, 过继性回输后实现快速肿瘤杀伤, 并能够在体内形成免疫记忆, 实现免疫重建, 也因此称为过继性细胞疗法^[30-31]。TCR-T 细胞疗法将体外筛选出的肿瘤抗原特异性 TCR 基因经过慢病毒载体或 mRNA 等基因工程手段导入离体 T 细胞中, 通过给患者输注携带外源性 TCR 基因的 TCR-T 细胞, 实现机体抗肿瘤免疫重建, 从而达到肿瘤治疗目的^[32]。

与 CAR-T 细胞治疗相比, TCR-T 细胞治疗具有一定的独特性。首先, TCR 能够募集 T 细胞中天然存在的 CD3 亚基产生免疫应答, CAR 胞内激活一般依赖于 CD3 ζ 的胞内结构域, 有 3 个 ITAM, 而 TCR/CD3 复合物的胞内受体结构域有 10 个 ITAM^[33]。其次, TCR-T 细胞与靶细胞之间形成免疫突触能够募集多种分子产生协同作用, 其产生效应时能够募集 CD4 或 CD8 共受体与 MHC 结合, 稳定了 TCR-pMHC 复合物结构, 除此之外还包括共刺激受体/配体间的相互作用以及黏附分子(adhesion molecules, AM)受体/配体间的相互作用(如 CD2 与 CD58、ICAM-1 与 LFA-1 等)^[34], 这些分子间的相互作用对于 T 细胞信号传导至关重要。第三, TCR-T 细胞对抗原的敏感性高于 CAR-T 细胞。天然 TCR 与 pMHC 间亲和力为 1–100 $\mu\text{mol/L}$, CAR 构建中抗体片段与抗原具有更高的亲和力

(nmol/L – pmol/L), 但 TCR 识别抗原敏感性高于 CAR^[35-36], 这与其上述 2 个特征密切相关。T 细胞与肿瘤细胞相互作用时形成免疫突触(immunological synapse, IS), 虽然 TCR-IS 启动信号比 CAR-IS 更慢, 但持续时间更长^[33]。

近年来, TCR-T 细胞疗法取得了一系列进展, 开展了针对多种肿瘤抗原的临床试验(表 1, 图 3), 主要用于实体瘤治疗, 覆盖的肿瘤抗原类型包括肿瘤突变新抗原(如 KRAS 突变抗原)、组织分化抗原(如 gp100)、癌睾丸抗原(如 MAGE-A4)、病毒抗原(如 HPV-E6)、过表达抗原(如 HER2)等。

2.1.1 靶向肿瘤相关抗原的 TCR-T 细胞治疗

目前, 针对肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)的 TCR-T 细胞研究主要包括靶向 MART-1、NY-ESO-1、WT-1、MAGE-A4 和 MAGE-A3 等抗原的 HLA-A2 限制性 TCR-T 细胞。

Clay 等^[38]最早开创了 TCR-T 细胞工程化改造策略, 将 HLA-A*02:01 限制性的 MART-1 特异性 TCR 基因导入 T 细胞中, 这些经改造的 TCR-T 细胞产生了对 MART-1 阳性肿瘤细胞的特异性杀伤。2006 年, Rosenberg 等^[39]进行了 TCR-T 疗法在临床试验中的首次尝试, 利用逆转录病毒载体将 MART-1 特异性 TCR 基因转入 17 名转移性黑色素瘤患者的外周血淋巴细胞中, 经体外扩增回输至患者体内后, 发现两名患者的转移性黑色素瘤持续客观缓解(objective regression)。

2014 年, Ribas 等^[40]报道了 MART-1 特异性 TCR-T 细胞治疗转移性黑色素瘤患者的临床研究结果(NCT00910650), 69% (9/13)患者实现了肿瘤消退。他们还发现, 新鲜制备的 MART-1 特异性 TCR-T 细胞比冷冻保存的 MART-1 特异性 TCR-T 细胞在体内具有更高的持久性。在使

表 1 正在进行的 TCR-T 临床试验^[37]Table 1 Ongoing TCR-T clinical trials^[37]

Study start	NCT No.	Target	Conditions	HLA restriction	Phase
2003/04	NCT00085930	EBV	Neuroblastoma	/	Phase I
2012/11	NCT01697527	NY-ESO-1	Malignant neoplasm	HLA-A*02:01	Phase II
2015/02	NCT02870244	/	Melanoma	HLA-A*02:01	Phase I
2015/11	NCT02535078	gp100	Malignant melanoma	HLA-A*02:01	Phase I/II
2016/02	NCT02570308	gp100	Uveal melanoma	HLA-A*02:01	Phase I/II
2016/09	NCT02869217	NY-ESO-1	NY-ESO-1 expressing solid tumors	HLA-A*02:01	Phase I
2017/01	NCT02858310	HPV-E7	Papillomavirus-associated cancers	HLA-A*02:01	Phase I/II
2017/03	NCT03093688	/	Advanced solid tumor	/	Phase I/II
2017/05	NCT03132792	AFP	AFP expressing tumors	HLA-A*02:01	Phase I
2017/05	NCT03132922	MAGE-A4	Solid tumors	HLA-A*02:01	Phase I
2017/07	NCT03240861	NY-ESO-1	Advanced malignant neoplasm	HLA-A*02:01	Phase I
2017/07	NCT02650986	NY-ESO-1	Advanced malignancies	HLA-A*02:01	Phase I/II
2017/09	NCT03190941	KRAS-G12V	Pancreatic cancer/Gastric cancer	HLA-A*11:01	Phase I/II
2017/09	NCT03250325	NY-ESO-1	Synovial sarcoma	HLA-A*02:01/ HLA-A*02:06	Phase I/II
2017/10	NCT03070392	gp100	Uveal melanoma	HLA-A*02:01	Phase II
2017/10	NCT01586403	/	Melanoma	HLA-A*02:01	Phase I
2017/12	NCT03139370	MAGE-A3/A6	Solid tumors	HLA-DPB1*04:01	Phase I
2017/12	NCT03017131	NY-ESO-1	Recurrent fallopian tube carcinoma	HLA-A*02:01	Phase I
2018/05	NCT03462316	NY-ESO-1	Soft tissue sarcoma/Bone sarcoma	HLA-A*02:01	Phase I
2018/07	NCT03354390	HERV-E	Kidney cancer	HLA-A*11:01	Phase I
2018/07	NCT03318900	PRAME	Recurrent ovarian cancer	HLA-A*02:01	Phase I
2018/09	NCT03412877	/	Endocrine tumors/Non-small cell lung cancer	/	Phase II
2018/12	NCT03778814	KK-LC-1	Non-small cell lung cancer	HLA-A*11:01	Phase I
2018/12	NCT03247309	/	Solid tumors	/	Phase I
2019/01	NCT03891706	/	Solid tumors	/	Phase I
2019/03	NCT04139057	EBV	Head and neck squamous cell carcinoma	/	Phase I/II
2019/03	NCT03691376	NY-ESO-1	Platinum-resistant fallopian tube carcinoma	HLA-A*02:01	Phase I
2019/04	NCT03907852	MSLN	Mesothelin-expressing cancer	/	Phase I/II
2019/04	NCT03899415	HBV	Hepatocellular carcinoma	/	Phase I
2019/05	NCT03745326	KRAS G12D	Gastrointestinal cancer/Pancreatic cancer	HLA-A*11:01	Phase I/II
2019/05	NCT03973333	MAGE-A4	Select advanced solid tumors	HLA-A*02:01	Phase I/II
2019/05	NCT03686124	/	Solid tumors	/	Phase I
2019/05	NCT03441100	MAGE-A1	Solid tumors	/	Phase I
2019/07	NCT03747484	MCPyV	Metastatic or unresectable merkel cell cancer	HLA-A*02:01	Phase I/II
2019/08	NCT04790409	EGFR	Lung cancer	/	Phase II
2019/12	NCT03967223	NY-ESO-1	Solid tumors	HLA-A*02:01	Phase II
2020/02	NCT04262466	PRAME	Advanced solid tumors	HLA-A*02:01	Phase I/II

(待续)

(续表 1)

Study start	NCT No.	Target	Conditions	HLA restriction	Phase
2020/03	NCT04318964	NY-ESO-1	Soft tissue sarcoma	HLA-A*02:01	Phase I
2020/10	NCT04729543	MAGE-C2	Melanoma/Head and neck cancer	HLA-A*02:01	Phase I/II
2020/12	NCT04526509	NY-ESO-1	Neoplasms	HLA-A*02:01	Phase I
2021/04	NCT04727151	HER2	HER2-positive solid tumors	/	Phase I/II
2021/04	NCT05339321	HBV	Hepatocellular carcinoma	/	Phase I
2021/10	NCT04146298	KRAS-G12V	Advanced pancreatic cancer	HLA-A*11:01	Phase I/II
2021/12	NCT04809766	MSLN	Metastatic pancreatic ductal Adenocarcinoma	/	Phase I
2022/02	NCT04520711	/	Malignant epithelial neoplasms	/	Phase I
2022/03	NCT05035407	KK-LC-1	KK-LC-1 positive epithelial cancers	HLA-A*01:01	Phase I
2022/04	NCT05296564	NY-ESO-1	Metastatic cancers	HLA-A*02:01/ HLA-A*02:06	Phase I/II
2022/04	NCT05194735	KRAS G12D/ KRAS G12V	Solid tumors	HLA-A*11:01/HLA-C*08:02/HLA-C*01:02	Phase I/II
2022/05	NCT04745403	HBV	Hepatocellular carcinoma	/	Phase I
2022/06	NCT05451849	MSLN	Advanced mesothelin-expressing cancer	/	Phase I/II
2022/06	NCT05438667	KRAS G12V/ G12D	Pancreatic cancer	HLA-A*11:01	Early phase I
2022/07	NCT05430555	MAGE-A1	Advanced solid tumors	HLA-A*02:01	Phase I/II
2022/07	NCT05549921	NY-ESO-1	Soft tissue sarcoma	HLA-A*02:01	Phase II
2022/07	NCT05122221	HPV-16	HPV-16 positive advanced cancers	HLA-A*02:01	Phase I
2022/08	NCT05357027	HPV-E6	Cervical carcinoma	HLA-A*02:01	Phase I/II
2022/08	NCT05539833	/	Solid tumors	HLA-A*02:01	Early phase I
2022/09	NCT05483491	KK-LC-1	Gastric cancer/Breast cancer/Cervical cancer	HLA-A*01:01	Phase I
2022/12	NCT05549297	gp100	Advanced melanoma	HLA-A*02:01	Phase II/III
2023/02	NCT04102436	/	Non-small cell lung cancer Breast cancer	/	Phase II
2023/03	NCT04509726	EBV	Nasopharyngeal carcinoma	/	Phase I/II

/: Not available; Data source: <https://clinicaltrials.gov/>.

用新鲜而非冷冻保存的 TCR-T 细胞时, DC 疫苗辅助治疗组观察到体内 TCR-T 细胞进一步扩增。

目前, 靶向 NY-ESO-1 抗原的 TCR-T 细胞临床研究最多(表 1, 图 3)。针对 NY-ESO-1 的特异性 TCR-T 细胞研究主要靶向 HLA-A*02:01 限制性表位 SLLMWITQC。2011 年, Rosenberg 等^[41]报道了靶向 NY-ESO-1 和 LAGE-1 抗原的特异性 TCR-T 细胞治疗 6 名滑膜细胞肉瘤和

11 名转移性黑色素瘤患者的临床研究结果(NCT00670748), 在 4 名滑膜细胞肉瘤和 5 名黑色素瘤患者中观察到客观临床响应(objective clinical response), 其中, 1 名滑膜细胞肉瘤患者出现了持续 18 个月的部分缓解(partial response, PR); 2 名黑色素瘤患者表现出完全消退(complete regression)。该团队在 2015 年更新了该 TCR-T 疗法的临床试验结果, 61% (11/18)的滑膜细胞肉瘤

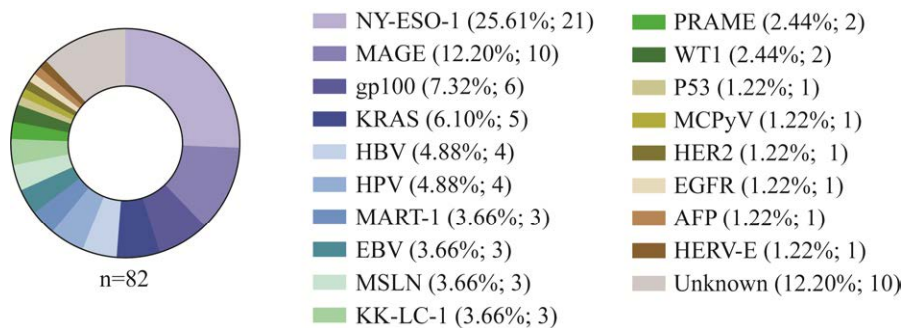


图3 TCR-T 临床试验肿瘤靶点分布^[37]

Figure 3 Distribution of tumor targets in TCR-T clinical trials^[37]. The image-producing software is Prism.

患者和 55% (11/20) 的黑色素瘤患者表现出客观临床响应^[42]。2018 年, Mackall 等^[43]报道, 在滑膜肉瘤患者中评估了 NY-ESO-1 和 LAGE-1 抗原特异性 TCR-T 细胞的治疗效果(NCT01343043), 并对患者体内 TCR-T 细胞的存活进行了持续监测, 在 50% (6/12) 患者中观察到临床响应(clinical response), 其中, 1 例确认完全缓解(complete response, CR); 5 例确认部分缓解。在所有接受了 TCR-T 细胞输注治疗的患者的外周血中均检测到 TCR-T 细胞的存在, 在 10 d 内可达到峰值, 其中, TCR-T 细胞在 7 名患者体内存活超过 200 d。

NY-ESO-1 和 LAGE-1 抗原不仅在滑膜细胞肉瘤和黑色素瘤等实体瘤中表达, 在血液瘤(如多发性骨髓瘤)中也表达。多发性骨髓瘤是常见的血液系统恶性肿瘤, 虽然免疫调节药物、单克隆抗体、蛋白酶体抑制剂等药物的开发延长了患者的生存期, 但无法治愈多发性骨髓瘤, 需要开发更有效的治疗方法^[44]。2015 年, June 等^[45]首次报道, 他们在晚期多发性骨髓瘤患者中评估了 NY-ESO-1 和 LAGE-1 抗原特异性 TCR-T 细胞的治疗效果(NCT01352286), 在第 100 天对 20 名患者进行了临床缓解评估, 70% (14/20) 患者接近完全缓解(near complete response, nCR), 在 2 例患者中观察到部分缓解。

因此, 靶向 NY-ESO-1 的 TCR-T 细胞治疗具有较高的安全性, 且对于滑膜肉瘤、黑色素瘤、多发性骨髓瘤等具有显著的临床治疗效果。

Greenberg 等^[46]在 2012 年开始开展了 Wilms 肿瘤抗原(Wilms' tumor antigen 1, WT1)特异性 TCR-T 治疗急性髓系淋巴细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者的 I/II 期临床试验(NCT01640301)。与正常细胞相比, WT1 在 AML 中过量表达 10–1 000 倍, 能促进肿瘤细胞的增殖。他们从 HLA-A*02:01 基因型健康供体的外周血中分离了 WT1₁₂₆₋₁₃₄ 抗原特异性 TCR (TCR_{C4})。为了降低 AML 患者内源性 TCR 识别供体移植细胞中爱泼斯坦-巴尔病毒(epstein-barr virus, EBV)诱发急性和慢性移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)的可能性, 他们利用慢病毒载体将 TCR_{C4} 基因插入同种异体干细胞供体的 CD8⁺ T 细胞中。在转导特异性 TCR 前, 供体 T 细胞被 HLA-A*02:01 限制性 EBV₂₈₀₋₂₈₈ 多肽(GLCTLVAML)刺激进行特异性扩增, 之后进行 TCR 转导并分选了 WT1 抗原和 EBV 抗原四聚体双阳性的 CD8⁺ T 细胞亚群, 经体外扩增后输注到 12 名接受了造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)的 AML 患者体内, 3 年无复发生存率(relapse-free survival, RFS)

为 100%；而在 88 名接受了 HSCT 但未输注 TCR-T 细胞的 AML 对照组患者中，RFS 为 54%。这项研究表明表达 TCR_{C4} 基因的 TCR-T 细胞输注耐受性良好，对表达生理水平的 WT1 的组织无毒性，展现了 TCR-T 细胞在 AML 治疗中潜在的应用前景。

2023 年 Hong 等^[47]报道了 Adaptimmune Therapeutics 公司开发的 ADP-A2M4 (afami-cel) TCR-T 细胞药物治疗滑膜细胞肉瘤、卵巢癌、头颈癌等实体瘤的 I 期临床试验结果(NCT03132922)。该 TCR 识别 HLA-A*02:01 限制性 MAGE-A4 抗原多肽 GYVDGREHTV^[48]。38 名患者的总客观缓解率为 24%，其中，在滑膜肉瘤患者中达到了 44%。体外研究表明，与 CD4⁺ afami-cel 细胞相比，CD8⁺ afami-cel 细胞对 MAGE-A4 肿瘤细胞的体外杀伤力明显更强^[47]。美国食品药品监督管理局已授予 afami-cel 在滑膜肉瘤中的再生医学先进疗法(regenerative medicine advanced therapy, RMAT)称号。

2013 年，Rosenberg 等^[49]报道了针对 MAGE-A3 抗原的鼠源 TCR-T 细胞治疗 7 名转移性黑色素瘤、1 名滑膜细胞肉瘤、1 名食管癌患者的临床研究结果(NCT01273181)，其中，4 名患者获得疾病部分缓解；1 名患者实现完全缓解；4 名患者无临床响应。Rosenberg 等^[50]在一项研究中评估了 MHC-II 类限制性抗原特异性 TCR-T 细胞的抗肿瘤效果(NCT02111850)。他们从接受 MAGE-A3 肽疫苗的黑色素瘤患者的外周血中分离出了 HLA-DPB*04:01 限制性 TCR，可识别 MAGE-A6/A3 肿瘤抗原^[51]。利用逆转录病毒载体将该 TCR 基因转入 17 名肿瘤患者 CD4⁺ 细胞中，经体外扩增培养后回输至患者体内。2017 年，他们报道了靶向 HLA-DPB*04:01 限制性 MAGE-A3 抗原特异性 TCR-T 细胞(KITE-718)的临床研究结果，在 1 名接受低剂量 TCR-T 细

胞(2.7×10^9 cells)的转移性宫颈癌患者中观察到客观的完全缓解(持续时间 ≥ 29 个月)；在 9 名接受最高剂量 TCR-T 细胞(0.78×10^{11} – 1.23×10^{11} cells)治疗的患者中，1 名食道癌患者(持续时间为 4 个月)、1 名尿道癌患者(持续时间 ≥ 19 个月)、1 名骨肉瘤患者(持续时间为 4 个月)出现部分客观响应^[50]。

由于 TAA 在不同实体瘤中广泛表达，使得以 TAA 为靶点的 TCR-T 细胞治疗在多种实体瘤中具有广泛的应用前景，但是目前的临床研究表明其不同实体瘤中的治疗效果存在较大差异。随着 NY-ESO-1 和 MAGE-A4 抗原等特异性 TCR-T 细胞在滑膜肉瘤及卵巢癌等多种肿瘤中临床试验不断取得积极进展，将为更多 TAA 相关的 TCR-T 细胞临床研究提供重要参考。

2.1.2 靶向病毒抗原的 TCR-T 细胞治疗

致癌病毒感染是多种肿瘤发生的重要因素，包括人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染导致的宫颈癌和头颈癌等，乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染导致的肝癌，以及 EBV 感染导致的鼻咽癌等。病毒抗原与自身抗原相比，其免疫原性更高，TCR 识别特异性更强，因此，致癌病毒的关键致癌基因是肿瘤免疫治疗的重要靶点。

E6 和 E7 是唯一始终保留在 HPV 阳性癌细胞中并表达的病毒基因，HPV 阳性癌细胞的生长取决于病毒 E6 和 E7 癌基因的持续表达，因此，HPV-E6 和 HPV-E7 抗原是 HPV 阳性肿瘤治疗中具有吸引力的靶点^[52]。2019 年，Rosenberg 等^[53]报道了一项 TCR-T 细胞治疗转移性 HPV 相关上皮癌 I 期/II 期临床试验研究结果(NCT02280811)。通过逆转录病毒载体将针对 HPV16 病毒 E6₂₉₋₃₈ 抗原多肽的特异性 TCR 基因转入 12 名患者的离体 T 细胞中，包括 6 名转移性 HPV16 阳性宫颈癌、4 名肛门癌、1 名口

咽癌和 1 名阴道癌患者。在所有患者中未出现 TCR-T 细胞输注或细胞因子风暴导致的急性毒性反应,其中,2 名患者实现了部分缓解;4 名患者疾病稳定(stable disease);6 名患者疾病进展(progressive disease)。2017 年 1 月 27 日, Hinrichs 等^[54]开始开展了 HPV-E7₁₁₋₁₉ 抗原多肽特异性 TCR-T 细胞治疗 HLA-A*02:01 基因型 HPV-16⁺ 相关肿瘤患者的临床研究(NCT02858310),包括宫颈癌、阴道癌、外阴癌等。截至 2018 年 4 月 20 日,共有 12 名患者接受了 TCR-T 细胞输注治疗,其中,6 名患者表现出客观的肿瘤缓解;3 名患者表现出一个或多个肿瘤完全消退。这两项研究均取得了积极的临床研究结果,展现了 TCR-T 疗法在治疗 HPV 阳性肿瘤中潜在的应用前景。

在一项针对转移性宫颈癌患者的研究中(NCT01585428),2 名患者接受 HPV E6 和 E7 抗原反应性 TIL 细胞输注治疗后实现了完全缓解^[55]。然而,在 2 个 TIL 培养物(TIL-3775 和 TIL-3853)中包含了未定性的抗原特异性 T 细胞。为了充分确定这 2 名患者治疗性 T 细胞所针对的抗原范围, Hinrichs 等^[56]设计了编码 HPV 基因和 8 种癌症种系抗原(BCP-20、CSAG-2、KK-LC-1、MAGE-A6、poTE-2、PRAME、SPAG9 和 gp100)基因全长的构建体,通过全外显子组测序鉴定患者肿瘤的体细胞突变,生成了串联微型基因(tandem minigene, TMG)构建体,通过电穿孔将这些基因构建体在体外转录的 RNA 转导入 DC 细胞中,作为验证 T 细胞功能的靶细胞,筛选出了 1 个识别 HLA-A*01:01 限制性 KK-LC-1₅₂₋₆₀ 抗原表位的 TCR。北九州肺癌抗原 1 (Kita Kyushu lung cancer antigen 1, KK-LC-1)由 CT83 基因编码,在健康组织中表达受限,在肺癌、胃癌和乳腺癌等上皮癌中高表达,无癌症种系抗原家族内交叉反应的风险,是 TCR-T 细

胞治疗 KK-LC-1 抗原阳性肿瘤的重要潜在靶点。2021 年 9 月 15 日, T-Cure Bioscience 公司公布靶向 KK-LC-1 抗原的 TCR-T 细胞疗法获得美国食品药品监督管理局批准进行临床试验。2022 年 8 月,该项 TCR-T 细胞疗法在胃癌、乳腺癌、宫颈癌等多种肿瘤中开始开展了 I 期临床试验(NCT05035407)。因此,尽管 HPV 感染是导致宫颈癌等肿瘤的关键因素,在肿瘤进展阶段可能存在其他肿瘤相关抗原,而联合靶向 HPV 抗原和其他肿瘤相关抗原可能具有更为显著的肿瘤治疗效果。

2020 年国际癌症研究中心公布的全球癌症统计数据显示肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球第六大常见癌症和第三大癌症死亡原因^[1]。其中,我国 HCC 新发病例和死亡病例在全球中的占比分别达到了 45%和 47%。HCC 进展迅速且预后较差,5 年生存率不足 5%^[57]。HBV 感染是 HCC 最常见原因^[58],我国由 HBV 感染导致的 HCC 占总 HCC 病例数的 75%–80%^[57]。HBV 感染的 HCC 患者很难实现在有限的疗程后持续检测不到循环 HBV 病毒表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)和 HBV DNA,即乙肝功能治愈^[59-60]。由于抗 HBV 病毒小分子药物无法清除或永久沉默感染肝细胞中持续存在的共价闭合环状 DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA),停药后可能引起乙肝复发^[61],因此,临床上迫切需要其他免疫疗法来改善现状。90%以上 HCC 患者肝细胞基因组中整合了 HBV-DNA,但整合的 HBV-DNA 通常是开放阅读框(open reading frame, ORF)的截短片段,所以整个 HBV 抗原可能不会在肝细胞中表达,但是可以转录编码 HBV 特异性 T 细胞识别表位片段^[62]。为了确定 HBV-HCC 细胞的特异性 T 细胞识别是否可以独立于 HBV 抗原的血清学阳性而发生, Tan 等^[63]通过免疫

荧光染色和 RNA 测序检测 HBV-HCC 肿瘤细胞系中 HBsAg 和 HBV 病毒核心抗原(hepatitis B core antigen, HBcAg)的表达。在抗体能够检测 HBsAg 与 HBcAg 表达的 HepG2.215 细胞系中检测到了 HBV 特异性 mRNA 定位在包膜(envelope, Env)和聚合酶(polymerase, Pol)编码区,在抗体未能检测到 HBsAg 与 HBcAg 表达的 Hep3B-A2 和 SNU354-A2 细胞系中也检测到了 HBV 特异性 mRNA 在 Env 和 Pol 编码区的表达,这些结果表明 HBV-HCC 细胞可以表达 HBV 特异性 mRNA 片段。为了评估 HBV 病毒 mRNA 片段与 HBsAg 和 HBcAg 组织学表达是否同样存在不一致性,他们通过 qPCR 分析了 20 名 HBV-HCC 患者的肿瘤组织,在 15 个组织中检测到了 Env 或 Pol 基因的扩增。通过 NanoString 数字化基因定量技术在 9 个 HCC 组织中的 6 个检测到了来自 Env 或 Pol 编码区的 HBV mRNA,在这 6 个 HCC 组织中,其中 4 个组织 HBsAg 和 HBcAg 抗原呈阴性。因此,在 HBsAg 和 HBcAg 抗原阴性的 HCC 组织中仍存在 HBV 特异性 T 细胞抗原表位,可以用作 HCC 特异性 TCR 药物治疗的靶点。

近年来,TCR-T 细胞疗法在 HBV 相关 HCC 治疗中展现了潜在的应用前景^[64]。Tan 等^[63]通过 mRNA 电穿孔技术制备了 HLA-B*58:01 限制性 Env₃₄₄₋₃₇₇ 表位(LTHB007)特异性 TCR-T 细胞,用于治疗 2 例肝移植后被诊断为 HBV 相关 HCC 患者。在治疗期间,患者血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)水平显著下降,其中 1 名患者的 6 个转移性肺部病变中的 5 个显著缩小。王福生等^[57]在一项 I 期临床试验(NCT03899415)研究中评估了 HBV 特异性 TCR-T 细胞(LioCyx-M004)治疗 8 名 HLA-A*02:01 和 HLA-CW*08:01 基因型晚期 HBV 相关 HCC 患者的疗效和安全性。所有患者接受 HBV-TCR-T

细胞输注治疗后均表现出 HBV DNA 水平的降低或维持稳定,其中,7 名患者血清 HBsAg 水平下降或维持稳定;1 名患者实现了持续 27.7 个月的部分缓解,这些结果表明 HBV 特异性 TCR-T 细胞具有良好抗病毒能力和体内耐受性。由于 HBV 特异性 TCR-T 细胞无法区分 HBV 感染的正常肝细胞和 HBV-HCC 肿瘤细胞,持续杀伤可能会造成严重肝损伤,因此, mRNA 转染使特异性 TCR 基因短期表达比慢病毒载体或逆转录病毒载体感染导致 TCR 基因的持续稳定表达更安全。虽然 HBV 特异性 TCR-T 细胞抗肿瘤功能很重要,与 TCR-T 细胞在体内发挥功能的持久性相比,多次进行 TCR-T 细胞输注治疗对于实现 HBV-HCC 患者免疫重建更加重要^[65]。

鉴于病毒抗原相对于 TAA 更优的免疫原性和特异性,以其为靶点的 TCR-T 细胞治疗显示了良好的临床治疗安全性和潜在的抗肿瘤效果,但仍需更为系统的临床研究以对其治疗效果进行评价。

2.1.3 靶向肿瘤突变新抗原(neoantigen)的 TCR-T 细胞治疗

近年来,肿瘤突变新抗原在肿瘤免疫治疗领域备受关注。临床研究发现,PD-1 免疫检查点抗体药物在高突变负荷的黑色素瘤及肺癌等多种肿瘤中相对于低突变负荷肿瘤具有更高的响应率^[66]。进一步研究发现,这些肿瘤突变能够被 HLA 分子递呈产生免疫原性,并产生针对突变抗原表位的特异性 T 细胞^[67],因此,高突变负荷肿瘤能够产生更多的肿瘤突变新抗原。这些在肿瘤患者体内预存的肿瘤突变新抗原特异性 T 细胞是免疫检查点抗体药物发挥效应的重要基础。基于肿瘤突变新抗原的治疗性疫苗在黑色素瘤和脑胶质瘤等多种肿瘤治疗的临床研究中表现出良好的治疗效果^[68-69]。2023 年 2 月 22 日,莫德纳和默沙东公司宣布基于 mRNA 技

术的个性化黑色素瘤疫苗获美国食品药品监督管理局突破性疗法认定, mRNA-4157/V940 疫苗与 PD-1 抗体 pembrolizumab 治疗黑色素瘤的联合疗法开展了 II 期临床试验(NCT03897881)。

KRAS 基因是至今研究最为清楚的肿瘤驱动基因之一, KRAS 突变发生在多种肿瘤中, 包括 90% 的胰腺导管腺癌(adenocarcinoma of the pancreatic ducts, PDAC)^[70]、40% 的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)^[71]、20%–40% 的肺腺癌^[72]、30% 的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)^[73]和约 3%–5% 的鳞状细胞癌^[72]。KRAS 突变集中在 G12、G13、Q61 位点^[74], 这些位点的突变会使得 KRAS“锁定”在 GTP 结合的激活状态, 使得其下游信号被持续性激活, 进而造成细胞的持续增殖并导致肿瘤的发生。2016 年, Rosenberg 等^[75]从 1 名转移性结直肠癌患者的 TIL 中分离了靶向 HLA-C*08:02 限制性 KRAS-G12D 抗原的特异性 T 细胞, 经体外扩增培养后回输至该患者体内, 患者肿瘤负荷显著降低, 表明 KRAS 特异性 T 细胞具有潜在的肿瘤治疗价值。2022 年, 该团队报道了靶向 KRAS-G12D 突变抗原特异性 TCR-T 细胞治疗 1 名转移性胰腺癌患者的积极临床研究结果, 该团队将针对 HLA-C*08:02 限制性 KRAS-G12D 九肽(GADGVGKSA)的 TCR 基因和 KRAS-G12D 十肽(GADGVGKSAL)的 TCR 基因通过逆转录病毒载体转导入离体 T 细胞中, 将体外扩增培养后的 TCR-T 细胞回输到患者体内, 治疗后第 6 个月患者的肿瘤病灶消失了 72%, 在细胞移植 6 个月后, 这些工程化的 T 细胞占患者所有循环外周血 T 细胞的 2% 以上^[76]。这些研究表明, 靶向 KRAS 突变的 TCR-T 细胞对于治疗 KRAS 突变的肿瘤具有潜在的治疗价值。

Mandl 等^[77]开发了一种基于 CRISPR-Cas9 非病毒精确基因组编辑的临床级方法, 首次同

时实现内源性 TCR 的敲除和外源性 TCR 的敲入。他们首先通过全外显子组测序比较了患者外周血 DNA 和肿瘤组织 DNA, 鉴定了患者的肿瘤突变新抗原, 并分离了其肿瘤突变新抗原反应性 T 细胞亚群, 分析 TCR 特征谱。将新抗原特异性 TCR (neoantigen-specific TCR, neoTCR) 的 TRAC 和 TRBC 基因克隆到同源重组(homologous recombination, HR) DNA 质粒中。通过电穿孔将 Cas9 蛋白引入患者 T 细胞中, 向导 RNA (guide RNA, gRNA) 引导 Cas9 蛋白敲除内源性 TRAC 和 TRBC 基因以及插入 neoTCR 的 HR 模板质粒。利用该项技术产生的 neoTCR-T 细胞治疗 16 名实体瘤患者(包括结肠癌、乳腺癌、肺癌)的 I 期临床试验(NCT03970382)结果在 2022 年被报道, 5 名患者接受 neoTCR-T 细胞输注后病情稳定, 该研究为实现个性化肿瘤新抗原特异性 TCR-T 细胞治疗提供了重要参考。

2.1.4 TCR-T 细胞结构和功能改造策略

尽管 TCR-T 细胞临床研究取得了一系列积极进展, 但是仍存在一些技术问题, 其中, 外源性 TCR α/β 链与内源性 TCR α/β 链的错配是影响其形成正确的 TCR 配对, 以及产生潜在自身反应性 TCR 的重要因素之一。因此, 如何降低外源性 TCR α/β 链与内源性 TCR α/β 链的错配, 是 TCR-T 细胞改造的重要方向。除此之外, 对 T 细胞抑制型分子信号的改造, 如利用基因编辑技术对 PD-1 等抑制型分子进行敲除, 以及趋化因子、细胞因子等信号的改造, 也是进一步提高 TCR-T 细胞功能活性的重要方向。

2020 年, June 等^[78]报道了一项利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术改造 NY-ESO-1 特异性 TCR-T 细胞治疗 2 名晚期难治性骨髓瘤和 1 名转移性肉瘤患者的临床研究结果(NCT03399448)。通过电穿孔将装载了 3 个小向导 RNA (small guide RNA, sgRNA) 的 CRISPR-Cas9

核糖核蛋白复合物转入患者离体 T 细胞中, 导致 T 细胞 TRAC、TRBC1、TRBC2 和 PDCD1 基因被敲除。外源性 TCR 与内源性 TCR 发生错配可能产生脱靶毒性, 敲除内源性 TCR 基因可以增强外源性 TCR 表达并降低外源性 TCR 与内源性 TCR 的错配率, 而 PDCD1 基因的敲除能够解除 PD-1 对 T 细胞活性的抑制作用^[79]。然后用慢病毒载体将识别 NY-ESO-1 和 LAGE-1 抗原的特异性 TCR 基因转入 T 细胞中, 经培养扩增后通过静脉回输经改造的 TCR-T 细胞至患者体内, 结果表明, 3 名患者均未出现细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS) 或细胞输注引起的明显副作用, 3 名患者体内的 NY-ESO-1 和 LAGE-1 抗原特异性 TCR-T 细胞在体外能裂解黑色素瘤细胞, 且其中 1 名患者实现了肿瘤负荷的客观缓解^[78]。

为了增强外源性 TCR 的有效表达和最大限度地减少与内源性 TCR 产生错配, Okamoto 等^[80]建立了一种逆转录病毒表达载体系统, 该系统表达内源性 TCR 基因特异性的小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA), 介导内源性 TCR 表达沉默。Shiku 等^[79]采用同样的策略, 将靶向 NY-ESO-1 抗原的特异性 TCR 转入离体 T 细胞中。在 I 期临床试验中, 9 名滑膜细胞肉瘤、卵巢癌、黑色素瘤和乳腺癌等实体瘤患者接受了针对 NY-ESO-1 抗原的 TCR-T 细胞(TBI-1301) 治疗, 分为低剂量组(5×10^8 cells)和高剂量组(5×10^9 cells)。2022 年报道了该项 I 期临床试验(NCT02366546)结果, 3 名滑膜细胞肉瘤患者的肿瘤大小比治疗前缩小了 30%以上, 在接受高剂量 TCR-T 细胞治疗的 6 名患者中, 3 名患者出现了 CRS, 其中 1 名患者出现与 TCR-T 细胞浸润相关的 3 级肺损伤。除 CRS 外, 未观察到与 siRNA 相关的不良事件。

除此之外, 利用不同物种间的差异进行嵌

合 TCR-T 细胞改造也能够减少错配, 包括将人源 TCR 的 V 区与鼠源 TCR 的 C 区进行嵌合表达, 或者将鼠源 TCR 的 V 区与人源 TCR 的 C 区进行嵌合表达。尽管嵌合 TCR 能够在一定程度上减少错配, 但异源分子的引入可能产生免疫原性, 在临床研究中需重点关注。利用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术同时实现内源性 TCR 的敲除和外源性 TCR 的敲入的非个体化现货型 TCR-T 细胞治疗, 是以 TCR 为基础的肿瘤免疫治疗未来的重要发展方向之一。

2.2 TCR 蛋白药物

TCR-T 细胞制备过程复杂, 需要高昂的成本, 大量 TCR-T 细胞输注可能会产生严重的细胞因子风暴, 相比较而言, 可溶性 TCR 蛋白药物成本更低, 体内药物代谢时间较细胞药物更短, 安全性和可控性相对较强, 并且对严重贫血、慢性感染等不适宜采血的肿瘤患者治疗的可行性更高。

由 Immunocore 公司研发的 tebentafusp (Kimmtrak)开辟了 TCR 蛋白药物治疗肿瘤的新策略。该药物由高亲和力 gp100₂₈₀₋₂₈₈ (YLEPGVTA) 特异性 TCR 的胞外结构域与 CD3 抗体的单链可变区(single-chain variable zone, scFv)融合而成。野生型 TCR 与 gp100₂₈₀₋₂₈₈/HLA-A*02:01 相互作用的亲和力为 18 $\mu\text{mol/L}$, Liddy 等^[81]利用噬菌体展示技术将亲和力提高至 15 pmol/L, 通过柔性接头将 CD3 抗体的 scFv 融合至 TCR β 链末端。tebentafusp 通过 TCR 识别 HLA-A*02:01 分子及其呈递的 gp100₂₈₀₋₂₈₈ 抗原多肽, 通过 CD3 抗体的 scFv 募集 T 细胞, 介导 T 细胞杀伤 gp100 抗原阳性的肿瘤细胞^[82]。在该药物的 III 期临床试验中(NCT03070392), 与使用其他药物(pembrolizumab、ipilimumab、dacarbazine)治疗的患者 1 年总生存率(59%)相比, tebentafusp 治疗的患者 1 年总生存率高达 73%, 且尚未出现与

治疗相关的死亡病例^[83]。tebentafusp 在 2022 年被美国食品药品监督管理局批准用于治疗 HLA-A*02:01 基因型遗传背景的转移性或不可切除的葡萄膜黑色素瘤。此外, Immunocore 公司还研发了其他靶点的 TCR 蛋白药物, 例如, 靶向 MAGE-A4 抗原的 IMC-C103C、靶向 HBV 包膜蛋白的 IMC-I109V、3 种靶向 PRAME 抗原的 TCR 蛋白药物(IMC-F106C、IMC-P115C、IMC-P119C)^[81]。

2021 年 12 月, Immunocore 公司公布了 IMC-C103C 药物 I 期剂量递增临床试验(NCT03973333)数据, 截至 2021 年 8 月 20 日, 42 名 MAGE-A4 抗原阳性患者接受了 IMC-C103C 药物治疗, 其中, 1 名患者实现了部分缓解, 持续时间为 8.3 个月; 2 名患者病变减少了 44% 和 81%, 无相关不良反应导致的停药或死亡^[84]。2022 年 9 月, Hamid 等^[85]在欧洲肿瘤内科学会(European Society for Medical Oncology, ESMO)公布了 IMC-F106C 药物治疗表达 PRAME 抗原的 HLA-A*02:01 阳性实体瘤患者的 I 期临床研究结果(NCT04262466), 在该研究中 IMC-F106C 每周给药 1 次, 剂量达到 20 mcg 及以上时具有显著的疗效。在 13 名未接受过 tebentafusp 治疗的患者中, 69% 患者的肿瘤缩小, 38% 的患者实现了部分缓解。IMC-C103C 和 IMC-F106C 药物均表现出可控的安全性, 在患者体内耐受性良好, 展现了以 CD3 抗体和特异性 TCR 的融合蛋白为代表的 TCE 在肿瘤治疗中的潜在的应用前景。

此后, Immunocore 公司采用相同的策略生成了针对 KRAS-G12D 抗原表位(VVVGADGVGK)的 TCR 蛋白。Chillakuri 等^[86]从 HLA-A*11:01 基因型健康供体中筛选出了针对 VVVGADGVGK 表位的 TCR (JDI TCR), 通过 3 次噬菌体随机突变库筛选, 将野生型 JDI TCR 与 HLA-A*11:01/

KRAS-G12D 之间相互作用的亲和力从 63 $\mu\text{mol/L}$ 提高至 63.7 pmol/L 。他们确认了突变后的 JDIa96b35 TCR 识别 HLA-A*11:01/KRAS-G12D 的特异性。为了研究 JDIa96b35 TCR 在可溶性 T 细胞重定向分子背景下的特异性和效力, 他们生成了 JDIa96b35 TCR 的胞外结构域与 CD3 抗体的 scFv 组成的融合蛋白(IMC-KRAS^{G12D}), IMC-KRAS^{G12D} 介导了 T 细胞对表达 KRAS-G12D 突变抗原的肿瘤细胞的特异性识别和重定向杀伤肿瘤细胞, 而对表达野生型 KRAS 的肿瘤细胞或正常细胞不会造成损伤, 这项研究为 IMC-KRAS^{G12D} 药物临床试验的开展提供了重要参考。

如前文所述, KRAS 突变集中在 G12、G13、Q61 位点, 在 G12 位点突变中最常见的 3 种是 G12D、G12V 和 G12C 突变^[87], 北京可瑞生物科技有限公司开展了针对 KRAS-G12V 和 KRAS-G12D 突变抗原的 TCR 药物治疗结直肠癌和胰腺癌患者的临床前研究。除了 Immunocore 和北京可瑞生物科技有限公司外, Immatics 公司也在 TCR 蛋白药物开发中取得了一些进展, 例如靶向 PRAME 抗原的 IMA401 药物已经进入临床试验阶段(NCT05359445)。

由于天然 TCR 与 pMHC 间的亲和力较低, 且 TCR 的可溶性表达与在 T 细胞膜上表达的稳定性差距较大, 需要进行稳定性和亲和力优化^[88]。为了在保持 TCR 对肿瘤抗原的特异性识别能力基础上提高 TCR 与 pMHC 相互作用的亲和力, 通常采取 TCR 随机突变库筛选的策略。李懿等^[89]在 2005 年报道了其利用噬菌体展示技术提高 TCR 亲和力的方法, 将 HLA-A*02:01 限制性 I 型 T 细胞白血病病毒(human T-lymphotropic virus 1, HTLV-1)抗原特异性 TCR (A2-tax) 与其配体间的亲和力从 1.8 $\mu\text{mol/L}$ 提高至 2.5 nmol/L , 将 HLA-A2 限制性 NY-ESO-1 表位特异性 TCR

(1G4 TCR)与其配体间的亲和力提高至 26 pmol/L。Madura 等^[90]也利用噬菌体展示技术,通过突变 TCR α 链的 CDR1、CDR2、CDR3 和 FR 区以及 β 链的 CDR2、CDR3 区获得了识别 HLA-A*02:01 限制性黑色素瘤抗原 MART-1₂₆₋₃₅ 表位的高亲和力 TCR (α 24 β 17 TCR) (KD=0.6 nmol/L), 比野生型 TCR (MEL5 TCR) (KD=18 μ mol/L)亲和力提高了 30 000 倍。虽然 α 24 β 17 TCR 和 MEL5 TCR 与多肽间的相互作用几乎无差别,但突变后的 TCR 与 MHC 间的相互作用显著增多,这也是亲和力增强的主要原因。此外,酵母展示技术也常被用来筛选高亲和力 TCR^[91]。

TCR 蛋白药物对于 TCR 突破个体化用药局限性,实现通用型药物应用具有重要意义,但目前在临床研究阶段的 TCR 蛋白药物仍相对有限。TCR 蛋白药物发挥作用所需亲和力相较于 TCR-T 细胞药物更高,但其抗原敏感性仍难以达到 TCR-T 细胞药物的高度抗原敏感性。TCR 蛋白药物开发和作用机制仍面临较多挑战,为了提高可溶性 TCR 蛋白识别配体能力,可溶性 TCR 蛋白成药前往往经过体外高亲和力成熟提高 TCR 与配体间相互作用的亲和力,但 TCR 蛋白药物结合配体的特异性和介导 T 细胞反应的特异性评价仍面临较多困难,容易产生脱靶毒性。TCR 蛋白药物发挥作用的机制仍需要深入研究,其发挥作用仍依赖于 T 细胞和肿瘤细胞相互作用形成的免疫突触,TCR 蛋白药物募集不同 T 细胞亚群发挥抗肿瘤作用的机制尚未阐明,在此过程中免疫调节分子的作用尚需深入研究。TCR 蛋白药物在体内半衰期相较于 TCR-T 细胞药物要短得多,且药物使用剂量稳定可控,即便在体内产生一定的脱靶毒性,其临床毒副作用相对可控。因此,TCR 蛋白药物将是未来 TCR 免疫治疗策略开发的重要方向。

2.3 其他以 TCR 为基础的免疫疗法

除了 TCR-T 细胞药物和 TCR 蛋白药物之外,近年来还出现了将 TCR 导入 NK 细胞的 TCR-NK 疗法探索性研究。NK 细胞是重要的天然免疫细胞,具有广谱杀伤活性,研究表明其可作为接受外源性肿瘤特异性 TCR 的受体细胞,构建形成 TCR-NK 细胞,发挥抗肿瘤免疫活性^[92]。NK 细胞具有监视和杀死肿瘤细胞的先天能力,能够释放颗粒酶、穿孔素、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和 IFN- γ ,上调凋亡相关因子配体(recombinant factor related apoptosis ligand, FASL)和 TNF 相关凋亡诱导配体(TNF related apoptosis inducing ligand, TRAIL)的表达等^[93]。NK 细胞表达 T 细胞下游信号传导的所有关键分子,具有类似于 T 细胞的杀伤作用,在 20 年前就已经被应用于治疗晚期白血病患者。目前,多项输注性 NK 细胞临床试验已经开展^[94]。NK 细胞疗法面临的挑战之一是缺乏杀伤的特异性。为了解决这个困境,CAR-NK 和 TCR-NK 疗法被提出,借助于 CAR 和 TCR 与肿瘤抗原特异性结合的能力,将 NK 细胞重定向。虽然 CAR-NK 细胞已经应用于临床研究,但主要针对血液瘤治疗,相比较而言,TCR-NK 疗法可能具有更为广泛的应用前景^[95]。

如上所述,TCR 在 T 细胞上的表达及信号传递都依赖于 TCR-CD3 复合物的形成。除了 CD3 ζ 链,NK 细胞不表达 CD3 分子的其他亚基。为了让 TCR-NK 细胞发挥与 TCR-T 细胞类似功能,在外源转入 TCR 的同时需要转入 CD3 分子。Parlar 等^[96]利用慢病毒载体将识别 HLA-A*02:01 限制性酪氨酸酶 (tyrosinase, Tyr) 抗原表位 Tyr₃₆₈₋₃₇₇ (YMDGTMSQV)的特异性 α/β TCR 和 CD3 分子转入 NK-92 细胞系中。当只转入 CD3 分子,而不转入 TCR 基因时,在细胞内可以检测到 CD3 的高表达,但是通过流式细胞术无法

检测到 NK-92 细胞表面 CD3 的表达。他们发现将 TCR 和 CD3 融合表达能够实现 TCR 和 CD3 分子在 NK 细胞上的表达。为了研究 TCR 介导的 TCR-NK-92 细胞免疫应答水平,将其在外源特异性多肽刺激下与 T2 靶细胞共培养,发现 TCR-NK-92 细胞受到 Tyr₃₆₈₋₃₇₇ 刺激后 CD107a 表达显著上调。在黑色素瘤小鼠肿瘤模型中,发现 TCR-NK-92 细胞具有显著的体内肿瘤抑制活性。

将 TCR 与 CD3 分子共同转入 NK 细胞系中也存在无法成功组装成复合物的风险,对原代 NK 细胞进行重编程也面临稳定和有效表达的挑战。为了简化 TCR-NK 细胞制备过程, Li 等^[97]将靶向 NY-ESO-1 特异性 TCR 的跨膜区替换成 CD28 分子的跨膜结构域,以使 TCR 独立于 CD3 表达。为了让 TCR 识别肿瘤抗原后能顺利传递 NK 细胞活化信号,在 CD28 分子末端加入了 NK 细胞活化相关信号分子(2B4、DAP10、4-1BB)。该嵌合 TCR 构建体在 NK-92 细胞表面的表达阳性率为 95%,在原代 NK 细胞上也达到了 77%。高效表达嵌合 TCR 的 NK-92 细胞和原代 NK 细胞在体外和体内都能实现对抗原的特异性识别,并产生杀伤肿瘤细胞的免疫应答效应。

TCR-NK 疗法在研究中展现了良好的抗肿瘤潜能,是实现同种异体“现货型”TCR 药物的潜在策略之一。

3 总结与展望

过继性细胞疗法的出现开创了肿瘤免疫治疗的新时代, TCR-T 细胞疗法具有靶向肿瘤胞内抗原的独特优势,成为了实体瘤治疗的重要潜在手段,以 TCR 为核心的 TCR 融合蛋白药物也展现了潜在的应用前景。然而,开发 TCR 相关免疫治疗药物仍面临诸多挑战,其广泛应

用仍需要深入的基础研究的支撑。

首先,如何高效发现具有治疗价值的 TCR 药物靶点仍面临挑战。TCR 药物靶点不同于抗体为基础的靶向药物(包括抗体靶向药物和 CAR-T 细胞药物等)和小分子药物等, TCR 特异性识别的分子是多肽与 MHC 分子形成的复合物,因此, TCR 药物靶点不仅需要靶点基因在肿瘤组织中的特异性表达,还需要其能够被胞内蛋白酶体加工并与 MHC 结合后呈递到细胞表面。表位多肽呈递的丰度及 MHC 表达效率对 TCR 药物发挥作用具有重要作用,而肿瘤发生发展过程中出现的 MHC 和 β_2m 基因突变往往导致其抗原呈递功能的改变或失活,对于 TCR 药物发挥效果具有重要影响。如前文所述,目前 TCR 药物开发靶点主要包括肿瘤相关抗原,一些靶点如 NY-ESO-1、MAGE-A4 等已经在临床研究中展现出了良好的安全性和一定的临床治疗效果,但是对于广泛的实体瘤效果仍需要进一步评估。致癌病毒抗原由于其高度特异性,已经成为 TCR 药物开发的热门靶点,临床研究展现了其良好的治疗前景。

近年来,随着肿瘤突变新抗原的发现及 TCR 药物临床研究进展,为 TCR 药物开发提供了更为广阔的靶点。个体化肿瘤新抗原疫苗具有良好的临床效果,提示靶向肿瘤突变新抗原具有潜在的肿瘤治疗价值。然而,由于肿瘤的高度异质性,肿瘤突变基因和突变位点呈现高度个体化特征,且由于 HLA 亚型的不同,即便同一突变,其针对肿瘤变异新抗原的免疫应答也存在高度多样性,如何实现靶向肿瘤突变新抗原的通用型 TCR 药物仍面临诸多挑战。不仅如此,肿瘤变异新抗原是否具有治疗价值仍缺乏有效的筛选和评估手段,靶向变异新抗原是否能够导致肿瘤消退或减缓生长,一方面取决于发生变异的抗原及变异位点是否是肿瘤增殖

或代谢等生物学特性的关键；另一方面也取决于突变基因在肿瘤细胞中表达的异质性程度及其在免疫选择压力下产生逃逸的能力。另外，一些表位多肽在肿瘤细胞中的特异性修饰，如乙酰化、磷酸化等，可能对于 TCR 识别和肿瘤免疫逃逸产生影响。如何应用人工智能等新技术发现新的具有治疗价值的抗原及表位，是决定 TCR 药物未来发展的重要影响因素。

第二，不同 HLA 限制性表位的发现及 TCR 药物开发不足。HLA 基因具有高度多态性，且其分布具有显著的地域特征。目前 TCR 药物开发主要针对 HLA-A2 限制性人群，而对其他 HLA 亚型表位鉴定及 TCR 研究相对较少。HLA-A2、HLA-A24、HLA-A11 是人群中 HLA-A 位点频率最高的 3 种亚型，其中 HLA-A2 是分布最为广泛的 HLA-A 亚型，在包括亚洲人和高加索人等在内的多种族中都具有较高的分布频率^[98]。HLA-A24 的基因频率在亚洲人群(尤其在日本人群)中相对较高，而在欧美的高加索人群中频率较低。HLA-A11 等位基因在包括中国在内的许多亚洲国家中出现频率很高，HLA-A*11:01 等位基因在中国北方地区占 20.23%^[99]；在中国西北地区的汉族人群中占 13.78%^[100]；此外，在马来西亚人群中占 21%^[101]；而在高加索人群中频率低于 5%。因此，需要关注不同 HLA 亚型的表位鉴定及 TCR 研究的临床需求，为满足不同地域和种族的 TCR 药物需求奠定基础。

第三，TCR 药物形式和递送途径的多元化仍需进一步探索。TCR 药物发挥作用离不开免疫细胞，目前 TCR 药物的递送形式包括慢病毒载体或逆转录病毒载体插入基因组，利用 mRNA 转入 T 细胞瞬时表达，以及 TCR 蛋白药物通过抗 CD3 抗体片段募集 T 细胞等。T 细胞的浸润性对于 TCR 药物在实体瘤肿瘤微环境中发挥作用至关重要，而针对肿瘤微环境中 T 细

胞的功能调控对于其肿瘤杀伤活性起关键作用。因此，对 TCR 药物结构的多元化改造，如多靶点 TCR 结构设计；趋化因子、细胞因子、免疫调节性受体/配体等元件的设计，对于提高 TCR 药物的浸润性及免疫活性具有重要意义。近年来，基因编辑技术发展突飞猛进，免疫细胞安全有效的体外编辑，实现免疫细胞的体外定向改造，对于实现通用型 TCR 细胞药物具有潜在价值。

第四，针对 TCR 治疗的免疫逃逸有待进一步改进。肿瘤免疫逃逸是指肿瘤细胞通过各种机制逃避免疫系统的识别和攻击而在体内继续存活和增殖，尤其是实体瘤存在复杂的免疫抑制微环境和内在异质性，趋化因子表达降低、抑制性表面分子的表达、缺氧导致的高钾水平和酸性环境等，将严重影响 T 细胞分泌细胞因子的能力和活性。这些是 ACT 治疗策略，包括 CAR-T 治疗和 TCR 治疗，面临的共同问题。除此之外，对于 TCR 治疗而言，肿瘤产生逃逸的策略还包括肿瘤抗原表达水平的下调(抗原丢失)、MHC 分子表达水平下调或 $\beta 2m$ /HLA 基因突变导致的抗原呈递能力的下降、外源 TCR 免疫原性产生的抗药抗体等。然而，有效解决这些问题仍存在较大挑战，尚无通用的解决策略，潜在的解决方案包括通过基因工程为效应细胞增加过氧化氢酶^[102]、CXCR2 等趋化因子^[103-104]、TGF- β 阻断元件^[105]等来提高肿瘤浸润或克服免疫抑制；将 TCR-T 疗法与 IL2^[46]或 IL7^[106]等细胞因子联合使用，促进 TCR-T 细胞的存活和稳态增殖，标准 ACT 方案中多种细胞因子被联合应用以支持 T 细胞的存活和扩增；将 TCR-T 细胞疗法与免疫检查点抑制剂(如 PD-1/PD-L1 抗体)相结合以增强 TCR-T 细胞抗肿瘤活性^[107]。因此，如何克服肿瘤免疫微环境的阻碍及与其他疗法的联用，对于提高 TCR 治疗临床疗效具

有重要价值, 相关研究仍需进一步的临床研究验证。

第五, 新技术驱动的 TCR 智能化设计。近年来, 人工智能领域发生了重大技术变革, 蛋白质的计算机辅助设计能力得到了极大提升。传统的 TCR 筛选主要利用表位多肽与 MHC 分子四聚体对潜在的免疫细胞群体进行染色分选, 耗时较长且效率较低。TCR 亲和力的提高是实现 TCR 蛋白药物的重要途径之一, 现有主要途径利用噬菌体展示、酵母展示或哺乳动物细胞展示技术, 建立 TCR 抗原结合区域的随机突变展示库进行筛选, 除此之外, TCR 样抗体的筛选也是解决 TCR 低亲和力的一种途径。然而, 这些体外亲和力成熟的 TCR 或 TCR 样抗体, 由于未经过胸腺阳性/阴性选择过程, 难以对其潜在的脱靶毒性风险进行全面评估。如何利用人工智能技术, 结合体内成熟 TCR 与 pMHC 相互作用的大数据, “从头设计” TCR 样蛋白, 以实现 TCR 样蛋白的高效设计, 将对 TCR 药物开发提供新的路径。综上所述, 随着第一个 TCR 药物的上市和 TCR 药物临床研究的不断深入, 以及肿瘤突变新抗原鉴定技术、基因编辑技术、人工智能蛋白设计技术等快速发展, 能够实现对实体瘤广阔的胞内抗原特异性识别并发挥效应。

TCR 药物将成为未来肿瘤免疫治疗策略开发的重要方向。尽管 TCR 药物目前仍面临诸多挑战, 但随着基础和临床研究的不断深入以及 TCR 药物的不断创新, TCR 药物将迎来快速发展的机遇期。

REFERENCES

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, LAVERSANNE M, SOERJOMATARAM I, JEMAL A, BRAY F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] BARBARI C, FONTAINE T, PARAJULI P, LAMICHHANE N, JAKUBSKI S, LAMICHHANE P, DESHMUKH RR. Immunotherapies and combination strategies for immuno-oncology[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(14): 5009.
- [3] CHANDRAN SS, KLEBANOFF CA. T cell receptor-based cancer immunotherapy: emerging efficacy and pathways of resistance[J]. *Immunological Reviews*, 2019, 290(1): 127-147.
- [4] EBERLEIN TJ, ROSENSTEIN M, ROSENBERG SA. Regression of a disseminated syngeneic solid tumor by systemic transfer of lymphoid cells expanded in interleukin 2[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 1982, 156(2): 385-397.
- [5] ROSENBERG SA, SPIESS P, LAFRENIERE R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes[J]. *Science*, 1986, 233(4770): 1318-1321.
- [6] TOPALIAN SL, SOLOMON D, AVIS FP, CHANG AE, FREERKSEN DL, LINEHAN WM, LOTZE MT, ROBERTSON CN, SEIPP CA, SIMON P. Immunotherapy of patients with advanced cancer using tumor-infiltrating lymphocytes and recombinant interleukin-2: a pilot study[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 1988, 6(5): 839-853.
- [7] KIRTANE K, ELMARIAH H, CHUNG CH, ABATE-DAGA D. Adoptive cellular therapy in solid tumor malignancies: review of the literature and challenges ahead[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2021, 9(7): e002723.
- [8] GAO GF, JAKOBSEN BK. Molecular interactions of coreceptor CD8 and MHC class I: the molecular basis for functional coordination with the T-cell receptor[J]. *Immunology Today*, 2000, 21(12): 630-636.
- [9] GAO GF, RAO ZH, BELL JI. Molecular coordination of $\alpha\beta$ T-cell receptors and coreceptors CD8 and CD4 in their recognition of peptide-MHC ligands[J]. *Trends in Immunology*, 2002, 23(8): 408-413.
- [10] CHRUSCIEL E, URBAN-WÓJCIUK Z, ARCIMOWICZ Ł, KURKOWIAK M, KOWALSKI J, GLIWŃSKI M, MARJAŃSKI T, RZYMAN W, BIERNAT W, DZIADZIUSZKO R, MONTESANO C, BERNARDINI R, MAREK-TRZONKOWSKA N. Adoptive cell therapy-harnessing antigen-specific T cells to target solid tumours[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(3): 683.

- [11] LAND CA, MUSICH PR, HAYDAR D, KRENCIUTE G, XIE Q. Chimeric antigen receptor T-cell therapy in glioblastoma: charging the T cells to fight[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2020, 18(1): 428.
- [12] HU Y, FENG J, GU T, WANG L, WANG Y, ZHOU L, HONG R, TAN SU YIN E, ZHANG M, LU P, HUANG H. CAR T-cell therapies in China: rapid evolution and a bright future[J]. *Lancet Haematology*, 2022, 9(12): e930-e941.
- [13] DAMATO BE, DUKES J, GOODALL H, CARVAJAL RD. Tebentafusp: T cell redirection for the treatment of metastatic uveal melanoma[J]. *Cancers (Basel)*, 11(7): 971.
- [14] HE QH, JIANG XH, ZHOU XK, WENG JS. Targeting cancers through TCR-peptide/MHC interactions[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2019, 12(1): 139.
- [15] TITOV A, ZMIEVSKAYA E, GANEEVA I, VALIULLINA A, PETUKHOV A, RAKHMATULLINA A, MIFTAKHOVA R, FAINSHTEIN M, RIZVANOV A, BULATOV E. Adoptive immunotherapy beyond CAR T-cells[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(4): 743.
- [16] la GRUTA NL, GRAS S, DALEY SR, THOMAS PG, ROSSJOHN J. Understanding the drivers of MHC restriction of T cell receptors[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18(7): 467-478.
- [17] SUN YM, LI FG, SONNEMANN H, JACKSON KR, TALUKDER AH, KATAILHA AS, LIZEE G. Evolution of CD8⁺ T cell receptor (TCR) engineered therapies for the treatment of cancer[J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2379.
- [18] PISHESHA N, HARMAND TJ, PLOEGH HL. A guide to antigen processing and presentation[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2022, 22(12): 751-764.
- [19] RATH JA, ARBER C. Engineering strategies to enhance TCR-based adoptive T cell therapy[J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1485.
- [20] JIANG WQ, HE YJ, HE WG, WU GS, ZHOU XL, SHENG QS, ZHONG WX, LU YM, DING YF, LU Q, YE F, HUA HJ. Exhausted CD8⁺ T cells in the tumor immune microenvironment: new pathways to therapy[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 622509.
- [21] HAO XP, SUN GS, ZHANG Y, KONG XY, RONG DW, SONG JH, TANG WW, WANG XH. Targeting immune cells in the tumor microenvironment of HCC: new opportunities and challenges[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 775462.
- [22] FARHOOD B, NAJAFI M, MORTEZAEE K. CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: a review[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(6): 8509-8521.
- [23] JHUNJHUNWALA S, HAMMER C, DELAMARRE L. Antigen presentation in cancer: insights into tumour immunogenicity and immune evasion[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2021, 21(5): 298-312.
- [24] DONG D, ZHENG LQ, LIN JQ, ZHANG BL, ZHU YW, LI NN, XIE SY, WANG YH, GAO N, HUANG ZW. Structural basis of assembly of the human T cell receptor-CD3 complex[J]. *Nature*, 2019, 573(7775): 546-552.
- [25] REINHERZ EL. $\alpha\beta$ TCR-mediated recognition: relevance to tumor-antigen discovery and cancer immunotherapy[J]. *Cancer Immunology Research*, 2015, 3(4): 305-312.
- [26] ALCOVER A, ALARCÓN B, DI BARTOLO V. Cell biology of T cell receptor expression and regulation[J]. *Annual Review of Immunology*, 2018, 36: 103-125.
- [27] GREENBAUM U, DUMBRAVA EI, BITER AB, HAYMAKER CL, HONG DS. Engineered T-cell receptor T cells for cancer immunotherapy[J]. *Cancer Immunology Research*, 2021, 9(11): 1252-1261.
- [28] GAUD G, LESOURNE R, LOVE PE. Regulatory mechanisms in T cell receptor signalling[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18(8): 485-497.
- [29] SHAH K, AL-HAIDARI A, SUN JM, KAZI JU. T cell receptor (TCR) signaling in health and disease[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6: 412.
- [30] RESTIFO NP, DUDLEY ME, ROSENBERG SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2012, 12(4): 269-281.
- [31] MET Ö, JENSEN KM, CHAMBERLAIN CA, DONIA M, SVANE IM. Principles of adoptive T cell therapy in cancer[J]. *Seminars in Immunopathology*, 2019, 41(1): 49-58.
- [32] JIANG XT, XU J, LIU MF, XING H, WANG ZM, HUANG L, MELLOR AL, WANG W, WU S. Adoptive CD8⁺ T cell therapy against cancer: challenges and opportunities[J]. *Cancer Letters*, 2019, 462: 23-32.
- [33] ZHAO QJ, JIANG Y, XIANG SX, KABOLI PJ, SHEN J, ZHAO YS, WU X, DU FK, LI MX, CHO CH, LI J, WEN QL, LIU T, YI T, XIAO ZG. Engineered TCR-T cell immunotherapy in anticancer precision medicine: pros and cons[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 658753.

- [34] HUPPA JB, SCHÜTZ GJ. T-cell antigen recognition: catch-as-catch-can or catch-22?[J]. *The EMBO Journal*, 2023, 42(7): e113507.
- [35] GAISSMAIER L, ELSHIATY M, CHRISTOPOULOS P. Breaking bottlenecks for the TCR therapy of cancer[J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2095.
- [36] WILLCOX BE, GAO GF, WYER JR, LADBURY JE, BELL JI, JAKOBSEN BK, van der MERWE PA. TCR binding to peptide-MHC stabilizes a flexible recognition interface[J]. *Immunity*, 1999, 10(3): 357-365.
- [37] ClinicalTrials.gov[DB/OL]. [2023-02-27]. <https://clinicaltrials.gov/>.
- [38] CLAY TM, CUSTER MC, SACHS J, HWU P, ROSENBERG SA, NISHIMURA MI. Efficient transfer of a tumor antigen-reactive TCR to human peripheral blood lymphocytes confers anti-tumor reactivity[J]. *The Journal of Immunology*, 1999, 163(1): 507-513.
- [39] MORGAN RA, DUDLEY ME, WUNDERLICH JR, HUGHES MS, YANG JC, SHERRY RM, ROYAL RE, TOPALIAN SL, KAMMULA US, RESTIFO NP, ZHENG ZL, NAHVI A, de VRIES CR, ROGERS-FREEZER LJ, MAVROUKAKIS SA, ROSENBERG SA. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes[J]. *Science*, 2006, 314(5796): 126-129.
- [40] CHODON T, COMIN-ANDUIX B, CHMIELOWSKI B, KOYA RC, WU ZQ, AUERBACH M, NG C, AVRAMIS E, SEJA E, VILLANUEVA A, MCCANNEL TA, ISHIYAMA A, CZERNIN J, RADU CG, WANG XY, GJERTSON DW, COCHRAN AJ, CORNETTA K, WONG DJL, KAPLAN-LEFKO P, et al. Adoptive transfer of MART-1 T-cell receptor transgenic lymphocytes and dendritic cell vaccination in patients with metastatic melanoma[J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2014, 20(9): 2457-2465.
- [41] ROBBINS PF, MORGAN RA, FELDMAN SA, YANG JC, SHERRY RM, DUDLEY ME, WUNDERLICH JR, NAHVI AV, HELMAN LJ, MACKALL CL, KAMMULA US, HUGHES MS, RESTIFO NP, RAFFELD M, LEE CC R, LEVY CL, LI YF, EL-GAMIL M, SCHWARZ SL, LAURENCOT C, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1[J]. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2011, 29(7): 917-924.
- [42] ROBBINS PF, KASSIM SH, TRAN TLN, CRYSTAL JS, MORGAN RA, FELDMAN SA, YANG JC, DUDLEY ME, WUNDERLICH JR, SHERRY RM, KAMMULA US, HUGHES MS, RESTIFO NP, RAFFELD M, LEE CC R, LI YF, EL-GAMIL M, ROSENBERG SA. 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]. *Clinical Cancer Research*, 2015, 21(5): 1019-1027.
- [43] D'ANGELO SP, MELCHIORI L, MERCHANT MS, BERNSTEIN D, GLOD J, KAPLAN R, GRUPP S, TAP WD, CHAGIN K, BINDER GK, BASU S, LOWTHER DE, WANG RX, BATH N, TIPPING A, BETTS G, RAMACHANDRAN I, NAVENOT JM, ZHANG H, WELLS DK, et al. Antitumor activity associated with prolonged persistence of adoptively transferred NY-ESO-1^{e259}T cells in synovial sarcoma[J]. *Cancer Discovery*, 2018, 8(8): 944-957.
- [44] SAN MIGUEL JF, PAIVA B, LASARTE JJ. Engineering anti-myeloma responses using affinity-enhanced TCR-engineered T cells[J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(3): 281-283.
- [45] RAPOPORT AP, STADTMAUER EA, BINDER-SCHOLL GK, GOLOUBEVA O, VOGL DT, LACEY SF, BADROS AZ, GARFALL A, WEISS B, FINKLESTEIN J, KULIKOVSKAYA I, SINHA SK, KRONBERG S, GUPTA M, BOND S, MELCHIORI L, BREWER JE, BENNETT AD, GERRY AB, PUMPHREY NJ, et al. NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma[J]. *Nature Medicine*, 2015, 21(8): 914-921.
- [46] CHAPUIS AG, EGAN DN, BAR M, SCHMITT TM, MCAFEE MS, PAULSON KG, VOILLET V, GOTTARDO R, RAGNARSSON GB, BLEAKLEY M, YEUNG CC, MUHLHAUSER P, NGUYEN HN, KROPP LA, CASTELLI L, WAGENER F, HUNTER D, LINDBERG M, COHEN K, SEESE A, et al. T cell receptor gene therapy targeting WT1 prevents acute myeloid leukemia relapse post-transplant[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(7): 1064-1072.
- [47] HONG DS, van TINE BA, BISWAS S, MCALPINE C, JOHNSON ML, OLSZANSKI AJ, CLARKE JM, ARAUJO D, BLUMENSCHEN GR JR, KEBRIAIEI P, LIN Q, TIPPING AJ, SANDERSON JP, WANG RX,

- TRIVEDI T, ANNAREDDY T, BAI J, RAFAIL S, SUN A, FERNANDES L, et al. Autologous T cell therapy for MAGE-A4⁺ solid cancers in HLA-A*02⁺ patients: a phase I trial[J]. *Nature Medicine*, 2023, 29(1): 104-114.
- [48] SANDERSON JP, CROWLEY DJ, WIEDERMANN GE, QUINN LL, CROSSLAND KL, TUNBRIDGE HM, CORNFORTH TV, BARNES CS, AHMED T, HOWE K, SAINI M, ABBOTT RJ, ANDERSON VE, TAVANO B, MAROTO M, GERRY AB. Preclinical evaluation of an affinity-enhanced MAGE-A4-specific T-cell receptor for adoptive T-cell therapy[J]. *OncoImmunology*, 2020, 9(1): 1682381.
- [49] MORGAN RA, CHINNASAMY N, ABATE-DAGA D, GROS A, ROBBINS PF, ZHENG ZL, DUDLEY ME, FELDMAN SA, YANG JC, SHERRY RM, PHAN GQ, HUGHES MS, KAMMULA US, MILLER AD, HESSMAN CJ, STEWART AA, RESTIFO NP, QUEZADO MM, ALIMCHANDANI M, ROSENBERG AZ, et al. Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy[J]. *Journal of Immunotherapy (Hagerstown, Md: 1997)*, 2013, 36(2): 133-151.
- [50] LU YC, PARKER LL, LU TY, ZHENG ZL, TOOMEY MA, WHITE DE, YAO X, LI YF, ROBBINS PF, FELDMAN SA, van der BRUGGEN P, KLEBANOFF CA, GOFF SL, SHERRY RM, KAMMULA US, YANG JC, ROSENBERG SA. Treatment of patients with metastatic cancer using a major histocompatibility complex class II-restricted T-cell receptor targeting the cancer germline antigen MAGE-A3[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2017, 35(29): 3322-3329.
- [51] YAO X, LU YC, PARKER LL, LI YF, EL-GAMIL M, BLACK MA, XU H, FELDMAN SA, van der BRUGGEN P, ROSENBERG SA, ROBBINS PF. Isolation and characterization of an HLA-DPB1*04:01-restricted MAGE-A3 T-cell receptor for cancer immunotherapy[J]. *Journal of Immunotherapy*, 2016, 39(5): 191-201.
- [52] HOPPE-SEYLER K, BOSSLER F, BRAUN JA, HERRMANN AL, HOPPE-SEYLER F. The HPV E6/E7 oncogenes: key factors for viral carcinogenesis and therapeutic targets[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(2): 158-168.
- [53] DORAN SL, STEVANOVIĆ S, ADHIKARY S, GARTNER JJ, JIA L, KWONG MLM, FAQUIN WC, HEWITT SM, SHERRY RM, YANG JC, ROSENBERG SA, HINRICHS CS. T-cell receptor gene therapy for human papillomavirus-associated epithelial cancers: a first-in-human, phase I/II study[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2019, 37(30): 2759-2768.
- [54] NAGARSHETH NB, NORBERG SM, SINKOE AL, ADHIKARY S, MEYER TJ, LACK JB, WARNER AC, SCHWEITZER C, DORAN SL, KORRAPATI S, STEVANOVIĆ S, TRIMBLE CL, KANAKRY JA, BAGHERI MH, FERRARO E, ASTROW SH, BOT A, FAQUIN WC, STRONCEK D, GKITSAS N, et al. TCR-engineered T cells targeting E7 for patients with metastatic HPV-associated epithelial cancers[J]. *Nature Medicine*, 2021, 27(3): 419-425.
- [55] STEVANOVIĆ S, DRAPER LM, LANGHAN MM, CAMPBELL TE, KWONG ML, WUNDERLICH JR, DUDLEY ME, YANG JC, SHERRY RM, KAMMULA US, RESTIFO NP, ROSENBERG SA, HINRICHS CS. Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus-targeted tumor-infiltrating T cells[J]. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2015, 33(14): 1543-1550.
- [56] STEVANOVIĆ S, PASETTO A, HELMAN SR, GARTNER JJ, PRICKETT TD, HOWIE B, ROBINS HS, ROBBINS PF, KLEBANOFF CA, ROSENBERG SA, HINRICHS CS. Landscape of immunogenic tumor antigens in successful immunotherapy of virally induced epithelial cancer[J]. *Science*, 2017, 356(6334): 200-205.
- [57] MENG FP, ZHAO JF, TAN AT, HU W, WANG SY, JIN JH, WU J, LI YY, SHI L, FU JL, YU SJ, SHEN YJ, LIU LM, LUAN JQ, SHI M, XIE YB, ZHOU CB, WONG RW, WAI LE, KOH S, et al. Immunotherapy of HBV-related advanced hepatocellular carcinoma with short-term HBV-specific TCR expressed T cells: results of dose escalation, phase I trial[J]. *Hepatology International*, 2021, 15(6): 1402-1412.
- [58] SHI JF, CAO MM, WANG YT, BAI FZ, LEI L, PENG J, FELETTI E, CANFELL K, QU CF, CHEN WQ. Is it possible to halve the incidence of liver cancer in China by 2050?[J]. *International Journal of Cancer*, 2021, 148(5): 1051-1065.
- [59] WALKER A, SCHWARZ T, BRINKMANN-PAULUKAT J, WISSKIRCHEN K, MENNE C, ALIZEI ES, KEFALAKES H, THEISSEN M, HOFFMANN D, SCHULZE ZUR WIESCH J, MAINI MK, CORNBERG M, KRAFT AR, KEITEL V, BOCK HH, HORN PA, THIMME R, WEDEMEYER H,

- HEINEMANN FM, LUEDDE T, et al. Immune escape pathways from the HBV core18-27 CD8 T cell response are driven by individual HLA class I alleles[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 1045498.
- [60] WONG GLH, GANE E, LOK ASF. How to achieve functional cure of HBV: stopping NUCs, adding interferon or new drug development?[J]. *Journal of Hepatology*, 2022, 76(6): 1249-1262.
- [61] MOHD-ISMAIL NK, LIM Z, GUNARATNE J, TAN YJ. Mapping the interactions of HBV cccDNA with host factors[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(17): 4276.
- [62] TAN AT, MENGFP, JIN JH, ZHANG JY, WANG SY, SHI L, SHI M, LI YY, XIE YB, LIU LM, ZHOU CB, CHUA A, HO ZZ, LUAN JQ, ZHAO JF, LI J, WAI LE, KOH S, WANG TT, BERTOLETTI A, et al. Immunological alterations after immunotherapy with short lived HBV-TCR T cells associates with long-term treatment response in HBV-HCC[J]. *Hepatology Communications*, 2022, 6(4): 841-854.
- [63] TAN AT, YANG NH, LEE KRISHNAMOORTHY T, OEI V, CHUA A, ZHAO XY, TAN HUI SI, CHIA A, LE BERT N, LOW D, TAN HK, KUMAR R, IRANI FG, HO ZZ, ZHANG Q, GUCCIONE E, WAI LE, KOH S, HWANG W, CHOW WC, et al. Use of expression profiles of HBV-DNA integrated into genomes of hepatocellular carcinoma cells to select T cells for immunotherapy[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(6): 1862-1876.
- [64] HAFEZI M, TAN A, BERTOLETTI A. Personalized armored TCR-redirected T cell therapy for liver/organ transplant with recurrent cancer[J]. *Cells*, 2021, 10(8): 1861.
- [65] TAN AT, BERTOLETTI A. HBV-HCC treatment with mRNA electroporated HBV-TCR T cells[J]. *Immunotherapy Advances*, 2022, 2(1): ltab026.
- [66] CHAN TA, YARCHOAN M, JAFFEE E, SWANTON C, QUEZADA SA, STENZINGER A, PETERS S. Development of tumor mutation burden as an immunotherapy biomarker: utility for the oncology clinic[J]. *Annals of Oncology*, 2019, 30(1): 44-56.
- [67] YARCHOAN M, JOHNSON BA 3RD, LUTZ ER, LAHERU DA, JAFFEE EM. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(4): 209-222.
- [68] KESKIN DB, ANANDAPPA AJ, SUN J, TIROSH I, MATHEWSON ND, LISQ, OLIVEIRA G, GIOBBIE-HURDER A, FELT K, GJINI E, SHUKLA SA, HU ZT, LI L, LE PM, ALLESØE RL, RICHMAN AR, KOWALCZYK MS, ABDELRAHMAN S, GEDULDIG JE, CHARBONNEAU S, et al. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial[J]. *Nature*, 2019, 565(7738): 234-239.
- [69] SAHIN U, DERHOVANESSIAN E, MILLER M, KLOKE BP, SIMON P, LÖWER M, BUKUR V, TADMOR AD, LUXEMBURGER U, SCHRÖRS B, OMOKOKO T, VORMEHR M, ALBRECHT C, PARUZYNSKI A, KUHN AN, BUCK J, HEESCH S, SCHREEB KH, MÜLLER F, ORTSEIFER I, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 222-226.
- [70] PIRLOG R, CALIN GA. KRAS mutations as essential promoters of lymphangiogenesis via extracellular vesicles in pancreatic cancer[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2022, 132(14): e161454.
- [71] ZHU GM, PEI LJ, XIA HW, TANG QL, BI F. Role of oncogenic KRAS in the prognosis, diagnosis and treatment of colorectal cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2021, 20(1): 143.
- [72] RECK M, CARBONE DP, GARASSINO M, BARLESI F. Targeting KRAS in non-small-cell lung cancer: recent progress and new approaches[J]. *Annals of Oncology*, 2021, 32(9): 1101-1110.
- [73] ARBOUR KC, RIZVI H, PLODKOWSKI AJ, HELLMANN MD, KNEZEVIC A, HELLER G, YU HA, LADANYI M, KRIS MG, ARCILA ME, RUDIN CM, LITO P, RIELY GJ. Treatment outcomes and clinical characteristics of patients with KRAS-G12C-mutant non-small cell lung cancer[J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2021, 27(8): 2209-2215.
- [74] SIMANSHU DK, NISSLEY DV, MCCORMICK F. RAS proteins and their regulators in human disease[J]. *Cell*, 2017, 170(1): 17-33.
- [75] TRAN E, ROBBINS PF, LU YC, PRICKETT TD, GARTNER JJ, JIA L, PASETTO A, ZHENG ZL, RAY S, GROH EM, KRILEY IR, ROSENBERG SA. T-cell transfer therapy targeting mutant KRAS in cancer[J]. *New England Journal of Medicine*, 2016, 375(23): 2255-2262.
- [76] LEIDNER R, SANJUAN SILVA N, HUANG HY, SPROTT D, ZHENG CH, SHIH YP, LEUNG A, PAYNE R, SUTCLIFFE K, CRAMER J, ROSENBERG SA, FOX BA, URBA WJ, TRAN E.

- Neoantigen T-cell receptor gene therapy in pancreatic cancer[J]. *New England Journal of Medicine*, 2022, 387(22): 2112-2119.
- [77] FOY SP, JACOBY K, BOTA DA, HUNTER T, PAN Z, STAWISKI E, MA Y, LU W, PENG SM, WANG CL, YUEN B, DALMAS O, HEERINGA K, SENNINO B, CONROY A, BETHUNE MT, MENDE I, WHITE W, KUKREJA M, GUNTURU S, et al. Non-viral precision T cell receptor replacement for personalized cell therapy[J]. *Nature*, 2023, 615(7953): 687-696.
- [78] STADTMAUER EA, FRAIETTA JA, DAVIS MM, COHEN AD, WEBER KL, LANCASTER E, MANGAN PA, KULIKOVSKAYA I, GUPTA M, CHEN F, TIAN LF, GONZALEZ VE, XU J, JUNG IY, MELENHORST JJ, PLESA G, SHEA J, MATLAWSKI T, CERVINI A, GAYMON AL, et al. CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer[J]. *Science*, 2020, 367(6481): eaba7365.
- [79] ISHIHARA M, KITANO S, KAGEYAMA S, MIYAHARA Y, YAMAMOTO N, KATO H, MISHIMA H, HATTORI H, FUNAKOSHI T, KOJIMA T, SASADA T, SATO E, OKAMOTO S, TOMURA D, NUKAYA I, CHONO H, MINENO J, KAIRI MF, DIEM HOANG NGUYEN P, SIMONI Y, et al. NY-ESO-1-specific redirected T cells with endogenous TCR knockdown mediate tumor response and cytokine release syndrome[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2022, 10(6): e003811.
- [80] OKAMOTO S, MINENO J, IKEDA H, FUJIWARA H, YASUKAWA M, SHIKU H, KATO I. Improved expression and reactivity of transduced tumor-specific TCRs in human lymphocytes by specific silencing of endogenous TCR[J]. *Cancer Research*, 2009, 69(23): 9003-9011.
- [81] LIDDY N, BOSSI G, ADAMS KJ, LISSINA A, MAHON TM, HASSAN NJ, GAVARRET J, BIANCHI FC, PUMPHREY NJ, LADELL K, GOSTICK E, SEWELL AK, LISSIN NM, HARWOOD NE, MOLLOY PE, LI Y, CAMERON BJ, SAMI M, BASTON EE, TODOROV PT, et al. Monoclonal TCR-redirection tumor cell killing[J]. *Nature Medicine*, 2012, 18(6): 980-987.
- [82] DOLGIN E. First soluble TCR therapy opens 'new universe' of cancer targets[J]. *Nature Biotechnology*, 2022, 40(4): 441-444.
- [83] NATHAN P, HASSEL JC, RUTKOWSKI P, BAURAIN JF, BUTLER MO, SCHLAAK M, SULLIVAN RJ, OCHSENREITHER S, DUMMER R, KIRKWOOD JM, JOSHUA AM, SACCO JJ, SHOUSHARI AN, ORLOFF M, PIULATS JM, MILHEM M, SALAMA AKS, CURTI B, DEMIDOV L, GASTAUD L, et al. Overall survival benefit with tebentafusp in metastatic uveal melanoma[J]. *New England Journal of Medicine*, 2021, 385(13): 1196-1206.
- [84] DAVAR D, SWEIS RF, BLUMENSCHNEIN G JR, GUTIERREZ R, MELERO I, CHEN HA, THISTLETHWAITE F, MOORE KN, SEGAL NH, GARRALDA E, WILKY B, ARKENAU HT, EVANS TRJ, JOHNSON ML, DAR M, HOLLAND C, MARSHALL S, STANHOPE S, KIRK P, LOPEZ JS. 91P phase I dose escalation of IMC-C103C, a CD3×MAGE-A4 T-cell receptor (TCR) bispecific protein[J]. *Annals of Oncology*, 2021, 32: S1411-S1413.
- [85] HAMID O, SATO T, DAVAR D, CALLAHAN MK, THISTLETHWAITE F, ALJUMAILY R, JOHNSON ML, ARKENAU HT, ILEANA DUMBRAVA EE, IZAR B, CHEN HA, MARSHALL S, YUAN Y, DEO M, STANHOPE S, COLLINS L, MUNDY R, ABDULLAH SE, LOPEZ JS. 728O results from phase I dose escalation of IMC-F106C, the first PRAME×CD3 ImmTAC bispecific protein in solid tumors[J]. *Annals of Oncology*, 2022, 33: S875.
- [86] POOLE A, KARUPPIAH V, HARTT A, HAIDAR JN, MOUREAU S, DOBRZYCKI T, HAYES C, ROWLEY C, DIAS J, HARPER S, BARNBROOK K, HOCK M, COLES C, YANG W, ALEKSIC M, LIN AB, ROBINSON R, DUKES JD, LIDDY N, van der KAMP M, et al. Therapeutic high affinity T cell receptor targeting a KRAS^{G12D} cancer neoantigen[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 5333.
- [87] PRIOR IA, LEWIS PD, MATTOS C. A comprehensive survey of ras mutations in cancer[J]. *Cancer Research*, 2012, 72(10): 2457-2467.
- [88] ROBINSON RA, MCMURRAN C, MCCULLY ML, COLE DK. Engineering soluble T-cell receptors for therapy[J]. *The FEBS Journal*, 2021, 288(21): 6159-6173.
- [89] LI Y, MOYSEY R, MOLLOY PE, VUIDEPOT AL, MAHON T, BASTON E, DUNN S, LIDDY N, JACOB J, JAKOBSEN BK, BOULTER JM. Directed evolution of human T-cell receptors with picomolar affinities by phage display[J]. *Nature Biotechnology*, 2005, 23(3): 349-354.
- [90] MADURA F, RIZKALLAH PJ, MILES KM, HOLLAND CJ, BULEK AM, FULLER A, SCHAUENBURG AJA, MILES JJ, LIDDY N, SAMI M, LI Y, HOSSAIN M, BAKER BM, JAKOBSEN BK,

- SEWELL AK, COLE DK. T-cell receptor specificity maintained by altered thermodynamics[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2013, 288(26): 18766-18775.
- [91] SMITH SN, HARRIS DT, KRANZ DM. T cell receptor engineering and analysis using the yeast display platform[J]. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N J)*, 2015, 1319: 95-141.
- [92] KARAHAN ZS, ARAS M, SÜTLÜ T. TCR-NK cells: a novel source for adoptive immunotherapy of cancer[J]. *Turkish Journal of Hematology*, 2023, 40(1): 1-10.
- [93] MEZA GUZMAN LG, KEATING N, NICHOLSON SE. Natural killer cells: tumor surveillance and signaling[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(4): 952.
- [94] MYERS JA, MILLER JS. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2021, 18(2): 85-100.
- [95] KANG S, GAO XF, ZHANG L, YANG EN, LI YH, YU L. The advances and challenges of NK cell-based cancer immunotherapy[J]. *Current Oncology*, 2021, 28(2): 1077-1093.
- [96] PARLAR A, SAYITOGLU EC, OZKAZANC D, GEORGOUDAKI AM, PAMUKCU C, ARAS M, JOSEY BJ, CHROBOK M, BRANECKI S, ZAHEDIMARAM P, IKROMZODA L, ALICI E, ERMAN B, DURU AD, SUTLU T. Engineering antigen-specific NK cell lines against the melanoma-associated antigen tyrosinase via TCR gene transfer[J]. *European Journal of Immunology*, 2019, 49(8): 1278-1290.
- [97] LI SC, ZHANG CT, SHEN LY, TENG X, XIAO YF, YU BT, LU ZM. TCR extracellular domain genetically linked to CD28, 2B4/41BB and DAP10/CD3 ζ -engineered NK cells mediates antitumor effects[J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2023, 72(3): 769-774.
- [98] KRAUSA P, BROWNING MJ. HLA-A2 polymorphism and immune functions[J]. *International Journal of Immunogenetics*, 1996, 23(4): 261-274.
- [99] YANG G, DENG YJ, HU SN, WU DY, LI SB, ZHU J, ZHU BF, LIU Y. HLA-A, -B, and-DRB1 polymorphism defined by sequence-based typing of the Han population in northern China[J]. *Tissue Antigens*, 2006, 67(2): 146-152.
- [100] 张洪波, 赖江华, 李生斌. 西北地区汉族人群 HLA-A、-B、-DRB¹ 基因座单倍型分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2005, 22(4): 464-466.
- ZHANG HB, LAI JH, LI SB. Analysis on HLA haplotypes of loci HLA-A, -B, and-DRB¹ in northwest Chinese Han population[J]. *Chinese Journal of Medical Genetics*, 2005, 22(4): 464-466 (in Chinese).
- [101] DHALI WAL JS, SHAHNAZ M, TOO CL, AZRENA A, MAISELAMAH L, LEE YY, IRDA YA, SALAWATI M. HLA-A, -B and-DR allele and haplotype frequencies in malays[J]. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 2007, 25(1): 47-51.
- [102] ANDO T, MIMURA K, JOHANSSON CC, HANSON MG, MOUGIAKAKOS D, LARSSON C, MARTINS DA PALMA T, SAKURAI D, NORELL H, LI ML, NISHIMURA MI, KIESSLING R. Transduction with the antioxidant enzyme catalase protects human T cells against oxidative stress[J]. *Journal of Immunology*, 2008, 181(12): 8382-8390.
- [103] IDORN M, SKADBORG SK, KELLERMANN L, HALLDÓRSDÓTTIR HR, HOLMEN OLOFSSON G, MET Ö, THOR STRATEN P. Chemokine receptor engineering of T cells with CXCR2 improves homing towards subcutaneous human melanomas in xenograft mouse model[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(8): e1450715.
- [104] PENG WY, YE Y, RABINOVICH BA, LIU CW, LOU YY, ZHANG MY, WHITTINGTON M, YANG Y, OVERWIJK WW, LIZÉE G, HWU P. Transduction of tumor-specific T cells with CXCR2 chemokine receptor improves migration to tumor and antitumor immune responses[J]. *Clinical Cancer Research*, 2010, 16(22): 5458-5468.
- [105] KLOSS CC, LEE J, ZHANG A, CHEN F, MELENHORST JJ, LACEY SF, MAUS MV, FRAIETTA JA, ZHAO YB, JUNE CH. Dominant-negative TGF- β receptor enhances PSMA-targeted human CAR T cell proliferation and augments prostate cancer eradication[J]. *Molecular Therapy*, 2018, 26(7): 1855-1866.
- [106] RATHMELL JC, FARKASH EA, GAO W, THOMPSON CB. IL-7 enhances the survival and maintains the size of naive T cells[J]. *Journal of Immunology*, 2001, 167(12): 6869-6876.
- [107] ROSSETTI R, BRAND H, LIMA SCG, FURTADO IP, SILVEIRA RM, FANTACINI DMC, COVAS DT, de SOUZA LEB. Combination of genetically engineered T cells and immune checkpoint blockade for the treatment of cancer[J]. *Immunotherapy Advances*, 2022, 2(1): ltac005.

(本文责编 陈宏宇)