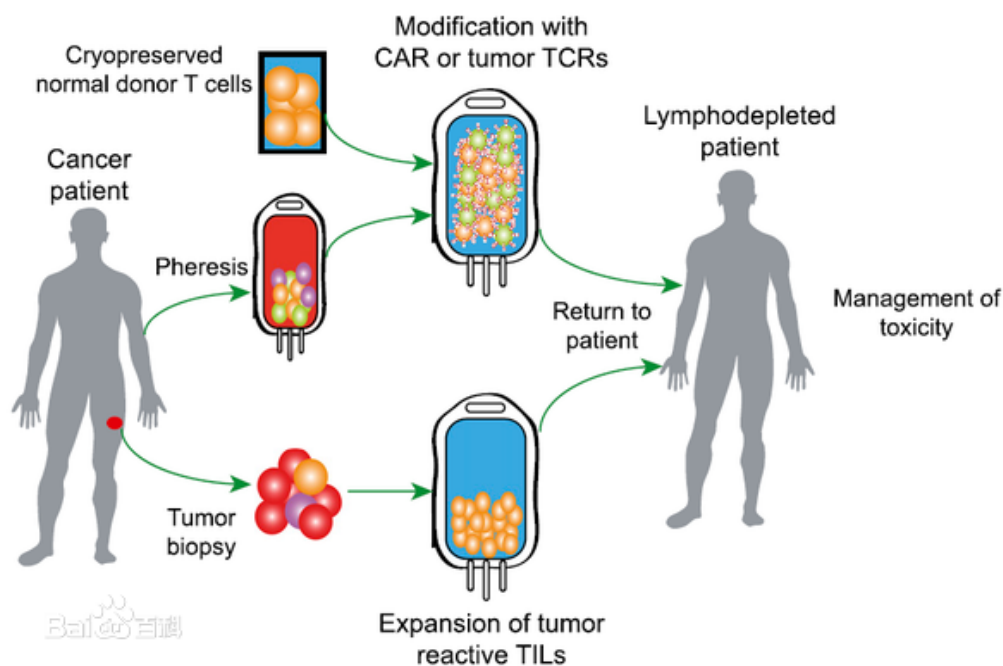


CAR-T 与 TCR 技术

1、CAR-T

CAR-T，全称是 Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy 指的是嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法。2017 年 10 月 19 日，美国政府批准第二种基于改造患者自身免疫细胞的治疗方法（yescarta 疗法）治疗特定淋巴瘤患者。yescarta 疗法属于嵌合抗原受体 T 细胞（car-T）疗法。[1]

TRANSLATING IMMUNOLOGY: CAR- AND TCR-ENGINEERED T CELLS



简介

CAR-T[2]，全称是 Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy，嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法。这是一个出现了很多年，但是近几年才被改良使用到临床上的新型细胞疗法。在急性白血病和非霍奇金淋巴瘤的治疗上有着显著的疗效，被认为是最有前景的肿瘤治疗方式之一。正如所有的技术一样，CAR-T 技术也经历一个漫长的演化过程，正是在这一系列的演化过程中，CAR-T 技术逐渐走向成熟。

CAR-T 概念与发展

CAR-T，嵌合抗原受体 T 细胞，是目前较为有效的恶性肿瘤的治疗方式之一。和其它免疫疗法类似，它的基本原理就是利用病人自身的免疫细胞来清除癌细胞，但是不同的是，这是一种细胞疗法，而不是一种药[3]。

CAR

嵌合抗原受体(CAR)是 CAR-T 的核心部件，赋予 T 细胞 HLA 非依赖的方式识别肿瘤抗原的能

力,这使得经过 CAR 改造的 T 细胞相较于天然 T 细胞表面受体 TCR 能够识别更广泛的目标。CAR 的基础设计中包括一个肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA) 结合区 (通常来源于单克隆抗体抗原结合区域的 scFv 段), 一个胞外铰链区, 一个跨膜区和一个胞内信号区。目标抗原的选择对于 CAR 的特异性、有效性以及基因改造 T 细胞自身的安全性来讲都是关键的决定因素[4]。

靶点的选择

理想的目标抗原是仅在肿瘤细胞表面表达的肿瘤特异性抗原。不幸的是肿瘤表达的大多数抗原不具备肿瘤特异, 因此大多数的 CAR 都以肿瘤相关性抗原作为靶点, 但这往往会导致“脱靶”的可能性。同时对于相关的抗原选择也需要注意避免选择分泌型抗原, 以避免 CAR-T 脱靶的可能。现阶段常用的靶点除 CD19 以外, 也有相关报道以 ERBB2 (HER-2/neu) 治疗肺部和前列腺癌, 瞄准前列腺特异性抗原治疗前列腺癌, 瞄准 CAIX 治疗肾细胞癌, 瞄准 Lewis Y 以治疗肺癌和卵巢癌等等。尽管这一列表尚不详尽, 但它清晰的表明 CAR-T 细胞在抗肿瘤方面的广泛应用。值得注意的是, 在刚结束的 2015 年美国肿瘤协会年会上, 有报道称美国宾西法尼亚大学的研究人员利用间皮素作为靶点构建的 CAR-T 成功的用于胰腺癌的治疗, 6 名参与治疗的患者均显效, 这显示了 CAR-T 在实体瘤的治疗上同样具有广阔的前景[4]

CAR-T 演化

第一代 CAR 介导的 T 细胞激活是通过 CD3 ζ 链或 Fc ϵ R1 γ 上的酪氨酸激活基序完成的。CD3 ζ 链能够提供 T 细胞激活、裂解靶细胞、调节 IL-2 分泌以及体内发挥抗肿瘤活性所需的信号。但第一代 CAR 改造 T 细胞的抗肿瘤活性在体内受到了限制, T 细胞增殖减少最终导致 T 细胞的凋亡。第二代 CAR 在胞内增加了一个新的共刺激信号, 实验证明, 这使得原有的使源自 TCR/CD3 复合体的“信号 1”扩大, 许多研究都表明, 搭载了“信号 2”的第二代 CAR 与第一代 CAR 相比, 抗原特异性不变, T 细胞增殖、细胞因子分泌增加, 抗细胞凋亡蛋白分泌增加, 细胞死亡延迟。常用的共刺激分子为 CD28, 但之后有研究将 CD28 用 CD137 (4-1BB) 进行替换, 除此之外, 一种使用 NK 细胞受体 CD244 的思路也被提出来。虽然不同的第二代 CAR 究竟孰优孰劣, 不同的研究者用不同的肿瘤在体内和体外的研究中得到的结果不尽相同; 但与第一代 CAR 相比, 这种设计能够增加对肿瘤细胞裂解的记忆效应以及 CAR 介导的杀伤效应[4]。

为了进一步改良 CAR 的设计, 许多研究组开始着眼于发展第三代 CAR, 不仅包括“信号 1”、“信号 2”, 还包括了额外的共刺激信号。不同研究者们用不同的靶点和共刺激信号开展的研究所得到的第二代 CAR 和第三代 CAR 的比较结果存在一定的差异性。一些研究报道表达第三代 CAR 的重组 T 细胞在抗肿瘤活性、存活周期及细胞因子释放方面均显著提高; Wilkie 等的研究结果显示靶向 MUC1 的第二代 CAR 与第三代 CAR 重组 T 细胞在抗肿瘤细胞毒性方面并无明显差异, 虽然表达第三代 CAR 的 T 细胞能够分泌更大量的 IFN- γ (Wilkie S, Picco G, Foster J, et al. Retargeting of human T cells to tumor-associated MUC1: the evolution of a chimeric antigen receptor. *J Immunol* 2008; 180: 4901 – 4909.)。值得注意的是, 上述区别仅仅是体外实验中获得结论, 目前尚未在体内比较第二代和第三代 CAR 的报道。这两代 CAR 之间的差异可能不止来自于信号传导域, 胞外的抗原结合域 (scFv)、重组 T 细胞的转染方法 (慢病

毒 VS 逆转录病毒)、重组 T 细胞的回输方式(静脉回输 VS 腹膜 VS 瘤体)等均可能影响 CAR-T 细胞的最终抗肿瘤效果[4]。

治疗流程

一个典型的 CAR-T 治疗流程，主要分为以下五个步骤[5]。

- ①分离：从癌症病人身上分离免疫 T 细胞。
 - ②修饰：用基因工程技术给 T 细胞加入一个能识别肿瘤细胞并且同时激活 T 细胞的嵌合抗体，也即制备 CAR-T 细胞。
 - ③扩增：体外培养，大量扩增 CAR-T 细胞。一般一个病人需要几十亿，乃至上百亿个 CAR-T 细胞（体型越大，需要细胞越多）。
 - ④回输：把扩增好的 CAR-T 细胞回输到病人体内。
 - ⑤监控：严密监护病人，尤其是控制前几天身体的剧烈反应。
- 整个疗程持续 3 个星期左右，其中细胞“提取-修饰-扩增”需要约 2 个星期，花费时间较长。

2、TCR（抗原受体）

T 细胞抗原受体 T 细胞（抗原）受体（T cell receptor ,TCR）TCR 为所有 T 细胞表面的特征性标志，以非共价键与 CD3 结合，形成 TCR—CD3 复合物。TCR 的作用是识别抗原。TCR 是由两条不同肽链构成的异二聚体，由 α 、 β 两条肽链组成，每条肽链又可分为可变区（V 区），恒定区（C 区），跨膜区和胞质区等几部分；其特点是胞质区很短。TCR 分子属于免疫球蛋白超家族，其抗原特异性存在于 V 区；V 区（V α 、V β ）又各有三个高变区 CDR1、CDR2、CDR3，其中以 CDR3 变异最大，直接决定了 TCR 的抗原结合特异性。在 TCR 识别 MHC-抗原肽复合体时，CDR1、CDR2 识别和结合 MHC 分子抗原结合槽的侧壁，而 CDR3 直接与抗原肽相结合。TCR 分为两类：TCR1 和 TCR2；TCR1 由 γ 和 δ 两条链组成，TCR2 由 α 和 β 两条链组成。外周血中，90%-95%的 T 细胞表达 TCR2；而且任一 T 细胞只表达 TCR2 和 TCR1 之一。

免疫检测

对于细胞免疫治疗而言，其疗效的监测与评价并不是简单的由 T 细胞的免疫活性高低或免疫应答反应的强弱来决定的，而是与复杂的分子免疫学因素有关[2]。

美国国立卫生院(NIH)癌症研究中心提出新观点：引起病人体内肿瘤的减小或消失的主要因素是克隆化的 T 细胞受体[3]。

英国伦敦大学在 2007 年发表一篇综述文章：“单克隆 T 细胞受体基因——新的癌症治疗制剂”，此文重点阐述了克隆化 T 细胞受体在免疫中的作用[4]。

美国西雅图癌症研究中心 2008 年 6 月在新英格兰医学杂志（NEMJ）发表了一篇“肿瘤自体免疫细胞治疗”的文章指出，从一位 52 岁黑色素瘤患者体内取出 T 细胞在体外克隆并经抗原刺激后回输到病人体内。两个月后复查未发现任何肿瘤存在，在随后的 22 个月中肿瘤未复发[5]。

参考资料

1. t-cell-receptor student reader[引用日期 2013-01-20]
2. Combination Antiretroviral Therapy Results in a Rapid Increase in T Cell Receptor Variable Region Repertoire Diversity within CD45RA⁺ CD8⁺ T Cells in Human Immunodeficiency Virus-Infected Children 美国国立卫生院官方网站[引用日期 2016-02-26]
3. Sorting Through Subsets: Which T-Cell Populations Mediate Highly Effective Adoptive Immunotherapy? 美国国立卫生院官方网站[引用日期 2016-02-25]
4. Monoclonal T-cell receptors: new reagents for cancer therapy 自然杂志官方网站[引用日期 2016-02-25]
5. Treatment of Metastatic Melanoma with Autologous CD4⁺ T Cells against NY-ESO-1 美国国立卫生院官方网站[引用日期 2016-02-25]