
这位世界顶级大牛在科研中的细心加耐心造就了又一颠覆性发现

作者：科研基地 来源：学术经纬、医药魔方数据

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/topnews/780.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

一般的研究者做科研，发表了文章之后就万事大吉了！

对科研中的很多小问题也没有来得及细想，最后即便有问题也没有及时follow up，过不了多就是的时间可能早就忘记的一干二净。

然而，殊不知一个细心的观察，一个偶然的实验也许能够造就一项重大发现！

细心的观察加偶然发现在人类科学史上也不是第一回了，比如最熟悉的弗莱明发现青霉素，当然，今天要介绍的就是这么一个最新的细心加耐心的搞科研而造就的一项大发现。

突变一个基因挽救一个患者

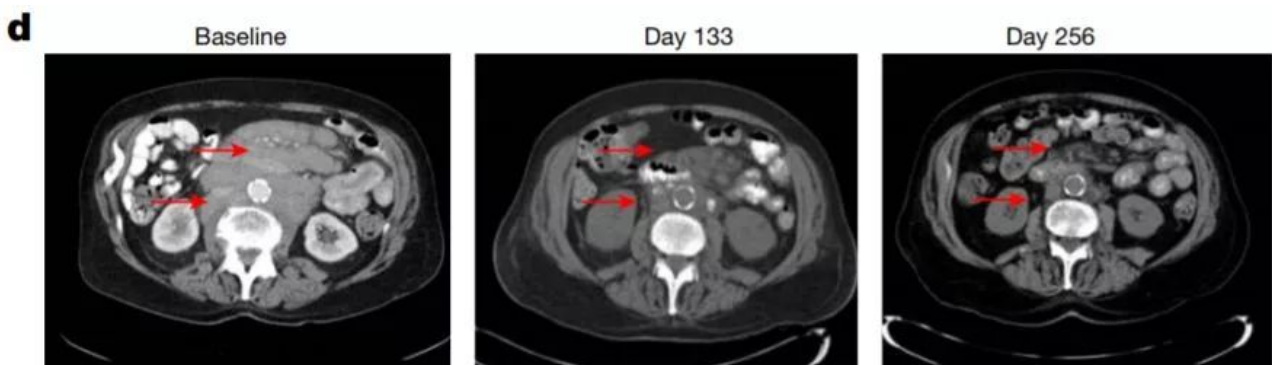
今日，顶尖学术期刊《自然》在线刊登了一项重磅研究。癌症免疫疗法大牛、CAR-T疗法先驱Carl June教授共同领导的一支科研团队，意外发现了一个可能颠覆传统CAR-T治疗的基因突变。它有望让原本治疗无望的白血病患者得到临床治愈。



▲ 本研究来自Carl June教授共同领导的团队(图片来源：Penn Medicine)

关心医药行业的读者朋友们可能知道，CAR-T是一类突破性的抗癌疗法。它能分离出患者体内的免疫T细胞，在体外进行基因改造，插入识别癌细胞抗原的受体，再输回患者体内。用形象的话说，科学家们给T细胞佩戴上了专属的抗癌武器，让它们有效消灭癌症。2017年，第一款和第二款CAR-T疗法相继得到美国FDA的批准上市，人类的抗癌史也就此翻开了新的篇章。

创新抗癌疗法的问世，自然离不开严格的临床试验。在这些试验里，一名罹患慢性淋巴性白血病的患者引起了Carl June教授等研究人员们的注意。按试验计划，这名患者将进行3次CAR-T细胞的输注治疗。可是在接受了两次治疗后，他的病情依旧没有得到有效缓解。

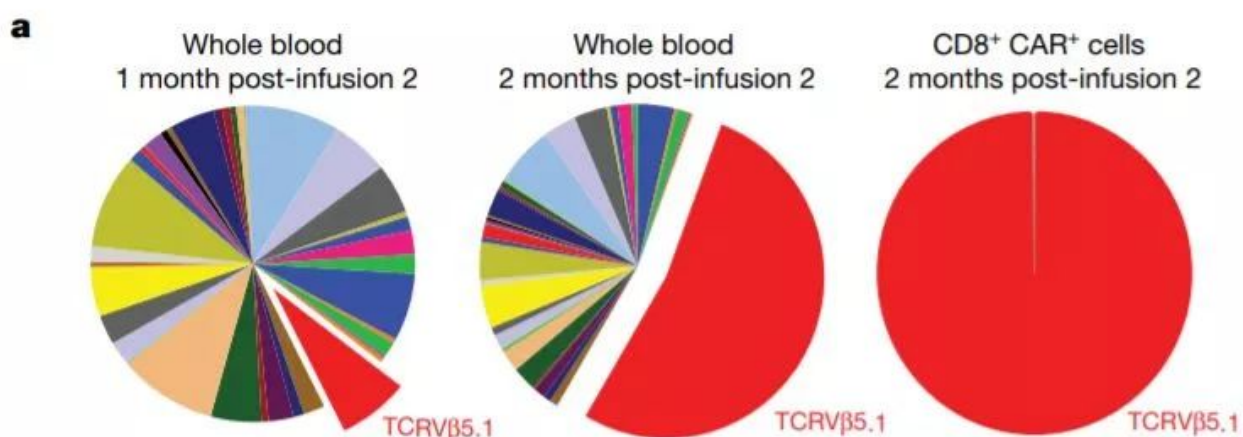


▲ 这名患者最终还是出现了病情缓解(图片来源：《自然》)

“直到治疗后的第50天，这名患者才出现了细胞因子释放综合征，这表明CAR-T疗法终于有了抗肿瘤效果。”该研究的另一名负责人J. Joseph Melenhorst教授说道。后续的医学影像分析也证实了这一点。在进行了最后一个疗程的治疗后，这名患者的病情得到了彻底的控制。自2013年接受治疗以来，他已经5年无癌，达到临床治愈。

尽管取得了理想的治疗效果，但这名患者的曲折经历却让研究人员们百思不得其解。通常来说，CAR-T疗法要么迅速起效，要么彻底无效，哪有过了50多天才突然起效的道理？

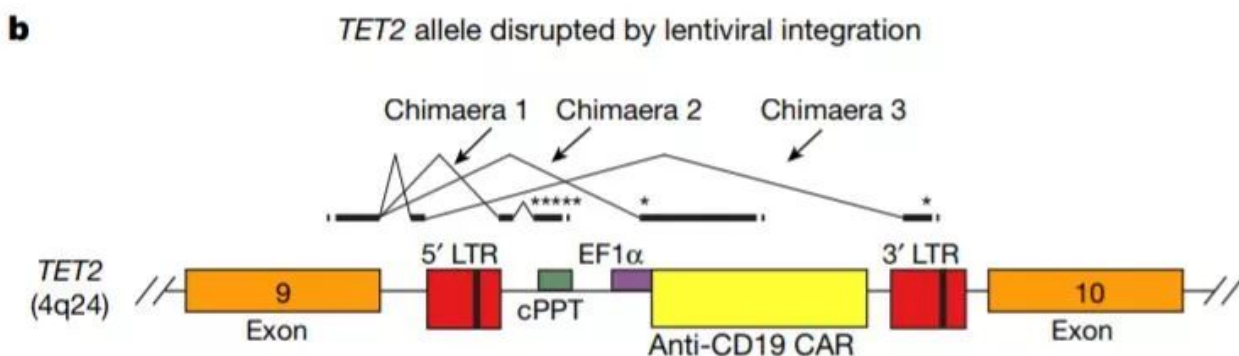
“这个治疗效果是我们所期盼的，但我们能从每一名患者身上学到很多东西，” Carl June教授说道：“我们重新回到了实验室，想尽可能了解背后发生了什么。”



▲ 研究发现这名患者的身体里，一类细胞占了统治性的地位(图片来源：《自然》)

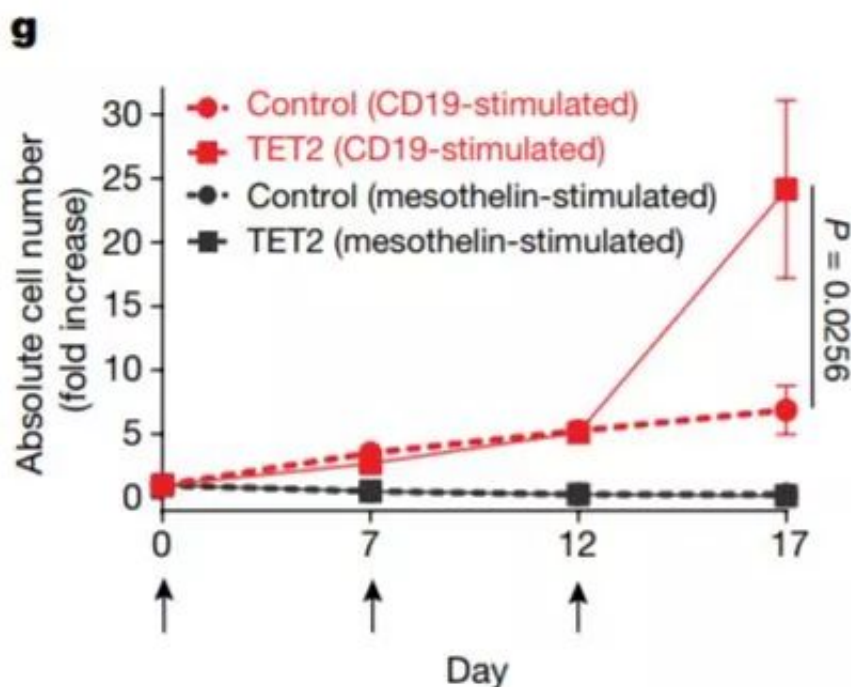
对这名患者的分析揭示了一个令人惊讶的事实——在他体内，94%的CAR-T细胞竟然来自于同一个祖先！“这实在是令人惊讶的发现，”该研究的第一作者Joseph A. Fraietta教授说道：“这告诉我们，CAR-T疗法所需的最低剂量，仅仅是一个细胞！”

这个细胞究竟发生了什么？通过测序，科学家们发现在基因改造的过程中，嵌合抗原受体(CAR)序列被意外地插入到了一个叫做TET2的基因里。在正常情况下，TET2控制了血细胞的生成，避免了它们的过度增殖。而一旦TET2基因的结构被破坏，这个CAR-T细胞就开始快速繁殖，顺便把患者体内的白血病消灭得干干净净。



▲ 抗CD19的CAR序列意外插入到了TET2基因中(图片来源：《自然》)

为了确认TET2基因是CAR-T疗法起效的关键，研究人员用shRNA对其表达进行了抑制。果不其然，一旦TET2基因的表达水平得到了下调，CAR-T细胞就出现了显著的扩增。基于在患者中取得的数据，以及体外实验的验证，研究人员在论文最后指出，TET2的失活可能有助于产生强力的CAR-T细胞。这些细胞不但能快速起效，还能长久生存。他们乐观地估计，或许单个CAR-T细胞，就足以有效控制晚期白血病患者的病情。倘若这一案例能得到更多临床试验的重复，无疑将大大缩短CAR-T细胞的制备流程，为这一疗法带来革命。



▲ 抑制TET2的表达可以促进CAR-T细胞的增殖(图片来源：《自然》)

科学家们说，这项发现是“一系列小概率事件”带来的奇迹。在机理得到阐明后，我们期待再次见证奇迹的发生！

本文题图来自Parker Institute

参考资料：

[1] Disruption of TET2 promotes the therapeutic efficacy of CD19-targeted T cells

[2] CLL patient treated at Penn goes into remission thanks to single CAR T cell

以下是关于人类里程碑免疫疗法三巨头之一的Carl June教授的精彩回顾

连环杀手

1971年，本已被斯坦福录取的June为了逃避越南战争的征兵而主动选择去海军学院。由于海军支付了他本科以及医学院学习培训的费用，因此按照规定他的服役时间也必须被相应地延长。

June从医学院毕业的时候他仍然还有12年的服役时间。而这也意味着在这12年的时间里，他的工作需要服从海军的安排。

June早期的一个研究方向是骨髓移植。上世纪七八十年代骨髓移植疗法已经初见成效，但该疗法也同样有可能产生致命的移植物抗宿主病(graft versus host disease)。“看着一个个的病人因副反应而死去，那真是太让人心痛了，” June回忆道。

1983年，环孢素获批用于预防和治疗骨髓移植引起的移植物抗宿主病。在June看来环孢素确实是一种很神奇的药物，因为环孢素不会像其他类型的免疫抑制剂那样抑制人体的整个免疫系统，而只会抑制T细胞的功能。

但June却发现如果同时使用环孢素和一款叫做9.3的单抗的话，T细胞的抑制作用就会被消除。当时June就已经很清楚9.3单抗的作用靶点是CD28，而在不久之后June的实验室就发现CD28能够以明显不同于CD3通路的方式活化T细胞 [4]。

但当时海军送June去学习骨髓移植技术的目的并不只是单纯的想进行基础科学研究。骨髓移植是治疗重度核辐射损伤的唯一有效的方法，海军希望June能够通过这种手段来治疗那些遭受过核辐射的士兵。

而随着柏林墙的倒塌，冷战结束，海军便不再对苏联的核武器心生恐惧，他们也就不再关心通过骨髓移植治疗核辐射的问题了。

到了九十年代，由于癌症领域的科研经费减少，June决定将实验室的研究方向转向HIV。June当时希望使用细胞疗法来治疗HIV感染。当时已经有一些科研人员研究过如何在体外对HIV特异性CD8 T细胞进行扩增，然后将这些细胞回输至病人体内，希望以此来重建病人的免疫系统。

这种方式其实与Rosenberg当初治疗癌症病人的方法非常类似。但与TIL疗法所不同的是，在体外扩增HIV感染者的T细胞会面临更多的困难。这很大程度上是由于诱导CD4+ T细胞增殖的过程同样也有可能活化HIV病毒的复制，从而加速T细胞死亡。

June此前一直在研究T细胞功能，而他之前积累的经验也为艾滋病领域的研究提供了很大的帮助

。由于June之前就发现了CD28对T细胞功能的重要影响，因此他开始尝试使用CD28抗体来激活T细胞上的CD28受体。

而在这个过程中他却发现了一个很有意思的现象，因为当使用游离的CD28抗体后，T细胞很容易被病毒感染。而如果将抗体固定在培养皿的底部，这些细胞就能够抵抗HIV感染 [5]。

但除此之外，在体外扩增T细胞然后再回输至感染者体内这种治疗手段并没有获得其他突破性进展。于是June希望更进一步，通过对T细胞受体进行改造来提高CD8 T细胞对HIV感染细胞的特异性，而他所使用的技术也正是CAR-T。

June与一家基因疗法公司Cell Genesys合作，通过诱导T细胞表达HIV特异性的CD4 zeta受体(胞内区为CD3 zeta)，来使这些细胞特异性地靶向被HIV感染的CD4 T细胞。

大概很多人并不了解，CAR-T疗法的第一项临床试验其实是用于治疗HIV/艾滋病的。

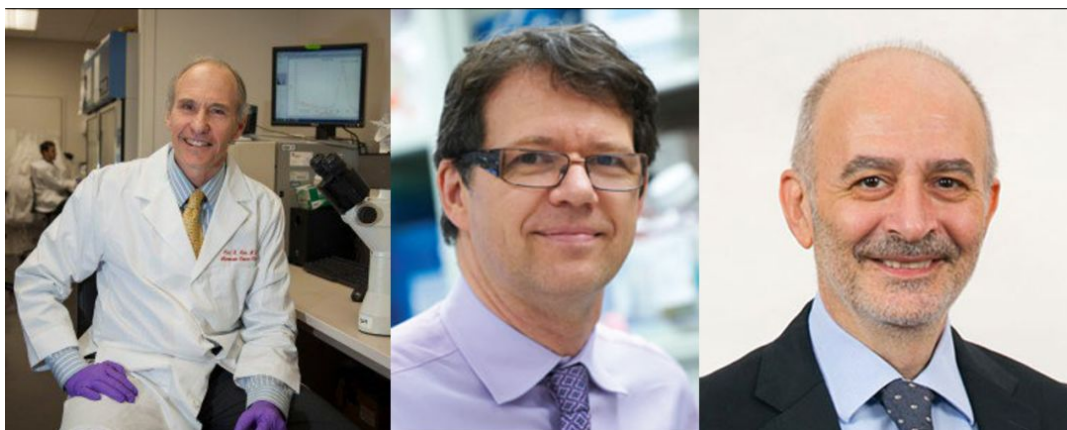
June和Cell Genesys合作进行过三项HIV的CAR-T疗法临床试验，这些临床研究证实了这一疗法的安全性，而且他们发现该疗法能使一些感染者的免疫功能得到恢复。但还没等他们对CAR-T技术进行进一步优化，Cell Genesys就在1997年停止了这些研究。

随着蛋白酶抑制剂的上市以及鸡尾酒疗法的出现，HIV/艾滋病变成了一种慢性病，而CAR-T疗法也就失去了竞争力。

但其实June在这些CAR-T疗法的研究中获得了一个很重要的发现。由于基因疗法有可能引起患者的基因组突变，因此NIH要求病人在接受基因疗法之后需要进行长达15年的随访。但是在随访之后June发现，即使过了数年甚至十数年，HIV感染者体内依然存在CAR-T细胞：这些细胞的半衰期竟然能够长达17年 [6]。

可能对于Michel

Sadelain来说，这一数据确会让他觉得非常难以置信。因为Sadelain在九十年代初研究CAR-T细胞的时候，他发现他使用的CAR-T细胞只能在肿瘤患者的体内存活不到一周的时间。



左: Carl June 中:Michel Sadelain 右:Dario Campana

上世纪八十年代，Sadelain还只是阿尔伯塔大学免疫学专业的一名研究生。他在Steve

Rosenberg的一次讲座中第一次听到了TIL这一名词。

使用T细胞作为药物来治疗癌症，这听起来真的很神奇。博士毕业之后，Sadelain前往Whitehead Institute for Biomedical Research进行基因疗法培训。到了1992年，他就已经能够成功改造小鼠的T细胞。

Sadelain当时觉得Zelig团队设计的嵌合抗原受体虽然能够模拟天然TCR的功能来活化T细胞，但同时也存在着很大的缺陷。

第一代CAR的胞内区包含CD3 zeta，这足以使CAR有效地介导T细胞的杀伤作用，但问题是CAR-T细胞却无法有效扩增，并且在多次抗原暴露之后依然能够维持其活化状态(energy)。这大概也是第一代的CAR-T疗法疗效不佳的一个很重要的原因。

而当Sadelain将June曾经研究过的共刺激分子CD28插入到CAR的结构中之后，这一问题就得到了很好的解决。而这种设计这也使CAR技术从第一代跃进到了第二代 [7]。

其实除了Sadelain，当时St. Jude 儿童研究医院的Dario Campana也在进行类似的研究，不过与Sadelain不同的是Campana使用的共刺激分子不是CD28，而是4-1BB [8]。

也正是在插入了共刺激分子CD28或4-1BB之后，才使得CAR-T细胞能够持续杀灭肿瘤细胞，变身连环杀手。

CAR-T争夺战

但无论是使用CAR-T还是其他疗法，若不是因为一场意外，June或许会一直进行HIV/艾滋病的研究。

1996年，June的妻子被诊断患有卵巢癌。June曾经尝试使用免疫疗法来治疗他的妻子，他甚至自己在实验室制作GVAX肿瘤疫苗。他曾坚信肿瘤疫苗能够起效，但现实总是很残酷，疫苗并没有能够缓解Cynthia的病情。

June了解到Medarex当时正在研发一款检查点抑制剂ipilimumab，能够通过解除肿瘤对于免疫系统的抑制来活化患者的免疫系统，使T细胞能够有效攻击肿瘤细胞。

June尝试通过compassionate use来申请使用ipilimumab，但最终还是没能成功。Ipilimumab在2011年才上市，而Cynthia在2001年便离开了人世。

June是如此地坚信免疫疗法的威力。在他的妻子离世之后，June决定前往宾夕法尼亚大学，全身心的投入到肿瘤免疫疗法的研究中，使用CAR-T技术来拯救那些濒临死亡的癌症患者。

但June当时也非常清楚自己使用的第一代CAR-T细胞的种种弊端。2003年June在一次演讲中了解到Campana在研究基于4-1BB的第二代CAR-T技术，会后June向Campana索要了CAR样本。而此时的Sadelain也与Rosenberg共享了自己的，基于CD28设计的CAR样本。

那时这群CAR-T技术的先驱们之间的交流还非常密切。经过改进之后CAR-T技术的分子设计已经逐渐成熟，但尽管如此，当时的研究仍然面临着很大的困难，因为无论是制药公司还是学术机构

，都不太看好这项技术。

制药公司更喜欢能够大批量生产的药物，而不是高度个体化的疗法。而且当时的临床研究也并未发现CAR-T具有很好的治疗效果。也正是由于这些原因，这些实验室的研究很难得到足够的经费支持。

然而就像June的妻子离世给了他战胜癌症的决心那样，另一位肿瘤患者的死亡也同样促使了CAR-T领域能够继续向前发展。

2001年，44岁的Kimberly Netter在与乳腺癌斗争了11年之后最终还是去世了。2002年Kimberly的家人Barbara以及Edward Netter在听了一场基因疗法的学术报告之后，决定成立肿瘤基因疗法联盟(ACGT)来支持肿瘤基因疗法的研究。

也正是ACGT赞助的科研经费使得June实验室的研究得以继续推进。除此之外，June也从白血病及淋巴瘤协会获得了经费支持。如果没有这些经费，大概他们也没有能力继续进行临床研究。

在本世纪的第一个十年接近尾声的时候，CAR-T领域的三位主要开拓者已经准备好进行临床试验，也由此开始了CAR-T疗法的争夺战。

2010年，Rosenberg实验室成为了第一个公布CAR-T临床试验结果的团队。他们报告了一位滤泡性淋巴瘤患者在接受靶向CD19的CAR-T疗法之后病情明显缓解[9]。

CD19是一个很特殊的靶点，或许这个靶点天生就适合用于CAR-T疗法。

而June团队的数据则更加亮眼。2011年，June的团队报告了三位接受CD19 CAR-T疗法治的CLL患者病例。而这些研究也成功的使CAR-T疗法成为了肿瘤治疗领域的一颗耀眼的明星。

June报告的三位病人中有两人达到了完全缓解 [10-11]。Bill Ludwig是第一位接受Carl June团队CAR-T疗法的病人。他在2000年被确诊患有CLL，经历了无数次的化疗之后，他的病情依然无法得到控制。

尽管Ludwig很清楚该疗法的风险，但他当时已经没有了其他的选择。而且在接受CAR-T疗法治疗之前Ludwig已经支付了自己葬礼的费用。

2010年8月Ludwig开始接受治疗。当经过基因改造的T细胞回输到他的体内之后，他开始出现肺功能衰竭，两条腿肿成之前两倍大，血压急速下降，并开始出现幻觉。但当他熬过这段痛苦的折磨之后，医生却已经无法找到癌症的任何踪迹。

另一位病人Doug Olson在1996年被确诊患有CLL，经历了无数次的化疗后，他的肿瘤在2009年复发，并且对当时的所有标准疗法都无法响应。

2010年9月，Olson接受了CAR-T疗法治疗。不到一个月的时间之后，他的CLL就已经完全缓解。为了庆祝，他在出院之后立即买了一艘船，并且开始尝试跑半程马拉松。

尽管Sloan Kettering的研究人员进行了第二代CAR的早期研究，但他们直到2013年才发表了第一篇

包含5名病人的临床试验结果的文章 [12]。

由于靶向CD19的CAR-T疗法疗效太过出众，此时的制药公司也立即开始入场，而且这时他们已经不再担心CAR-T细胞的生产过程过于复杂。

诺华很快获得了宾夕法尼亚大学June实验室的CAR-T疗法的权益。在经历了多年的挫折与冷遇之后，CAR-T疗法逐渐开始被金钱所淹没。

尽管进行CAR-T疗法研究的公司很多，但有三家公司在早期处于领先地位，而这三家公司也与CAR-T疗法的早期开拓者有着极为密切的关联：诺华与June所在的宾夕法尼亚大学合作，Juno与Sadelain所在的Sloan Kettering以及Fred Hutchinson癌症研究中心和西雅图儿童医院合作，而Kite的技术源自Rosenberg所在的NCI。

而到了此时，CAR-T领域早期开拓者之间的非常密切交流也已经不复存在。临床试验的成功所带来的并不是他们之间更紧密的合作，是他们能够更好地去探索更多未知的领域。取而代之的是猜忌，竞争，与荣耀名利之争。

June在《新英格兰杂志发表》的研究中所使用的CAR其实是由Campana设计和提供的，而June在新英格兰发表的三篇文章中并未提及Campana实验室对该项研究的贡献。

而且June在2011年的文章中也并没有引用Rosenberg 2010年在Blood中发表的相关临床试验的数据。

不管是无心之失还是有意而为之，很多人确实误以为June团队使用的第二代CAR是出自他们自己之手。

2012年，Campana所在的St.Jude因专利纠纷起诉了宾夕法尼亚大学。当时诺华与宾夕法尼亚大学同属一个战队，而Juno与St.Jude同属另一个战队。

这项诉讼最终以诺华支付Juno 1225万美元外加里程牌付款而解决。几天之后June也向《新英格兰医学杂志》提交了致歉信并对之前的文章进行了修改。

而在2012年，一位患有ALL的五岁小女孩的成功治愈，又一次让June成了CAR-T领域最亮眼的明星。

Emily Whitehead

2010年，5岁的Emily Whitehead被诊断患有ALL。刚开始的时候医生以为她得的只是普通的白血病，但在疾病复发之后医生意识到她的病情并没有那么容易控制。

Emily的父母对她下一步治疗方案的制定感到万分忧虑，他们决定咨询其他医生的意见。而费城儿童医院的Rheingold医生给出的治疗建议与Emily当时的主治医生一致：希望Emily能够进行下一轮更高强度的化疗。

但Rheingold医生同时也说，如果他们想选择其他治疗方案的话她也能够帮助他们。Emily的父母接受了他们的建议进行了化疗。但仅仅4个月之后Emily就出现第二次复发，并且病情迅速恶化。

此时Emily的父母意识到他们必须更换主治医生，并寻找不同于普通化疗的、更加前沿的治疗手段。在确定无法进行骨髓移植之后费城儿童医院给出的建议是参加June团队的CD19 CAR-T疗法临床试验。

虽然June团队此前已经治疗过三名ALL患者，但儿童患者对CAR-T疗法的效果如何却没有人能够预测。在与费城儿童医院的Rheingold和Stephan Grupp医生交流之后Emily的父母决定冒险让她参与该临床试验。

如果这一次不成功，Emily大概就只剩下几个月的生命了吧。4周之后Emily的T细胞制备完毕。2012年4月17日，Emily成为第一个接受T细胞疗法治的儿科患者。Grupp医生计划分三次将CAR-T细胞输入她体内。

在初次输入10%的T细胞之后的第二天Emily接受了第二次治疗，这一次医生向她体内输入了30%的CAR-T细胞。Grupp医生说在回输T细胞的几天后Emily可能会产生类似流感的症状，而之前的三位病人也产生了同样的反应。

但令人意想不到的，Emily的症状却比医生预想的要严重的多。2012年4月18日，Emily接受治疗之后在父母的陪伴下开心的回到家中。晚上的时候Emily的心情特别好，还一直缠着她父亲Tom玩耍。

但到了半夜，Emily忽然开始发烧。她的父母迅速将她送到费城儿童医院的急诊。之后医院迅速召集了多名医生机体会诊，而此时Tom站在一旁，看着自己的女儿手腕、大腿动脉以及颈动脉被切开，并插入17根IV管以维持她的生命。

医生对Emily的父母说他们从未见过并且如此病重的病人，Emily大概挺不过这一晚了。虽然他们很清楚Emily的病情是由输入的T细胞导致的，但并不清楚她的体内到底发生了什么变化。

Emily的妈妈坐在她的床边，安静的看着床边的呼吸机，她坚信不可能就这样结束，绝不可能。

此时Carl June的医护团队也没有放弃，他们加紧进行另一次血液检查以明确Emily体内的免疫反应。检查结果令医生们感到非常诧异，Emily体内的IL-6高出正常值近一千倍。医生们推测IL-6正是导致Emily病情如此严重的原因。

幸运的是Carl知道该如何应对这种状况，他的女儿因患有类风湿正在使用一款IL-6抑制剂tocilizumab。虽然tocilizumab从未被用于癌症患者的治疗，疗效和安全性难以保证，但即使用了tocilizumab，Emily的病情也没办法更糟糕了。

在Emily的治疗过程中，确实有极大的运气和偶然因素存在。在Grupp给Emily使用了tocilizumab之后，Emily的反应简直令人难以置信。ICU的医护人员说，他们从来没有见过如此病重的人能够在如此短的时间内快速恢复，几个小时内Emily的病情便迅速缓解。

一周之后Emily在她7岁生日的那天醒来。重症监护室的医护人员为她唱起了生日快乐歌。虽然闯过了鬼门关，但医生们依然不知道回输的T细胞是不是能够对她的癌症产生作用。

3周之后，医生们对Emily进行了骨髓检查，结果是阴性，Emily的白血病消失了。

Grupp医生说，是CAR-T疗法救了Emily，但同时Emily也拯救了CAR-T疗法，如果Emily去世的话大概CAR-T疗法也不会存在了。直到现在Emily的ALL依然没有复发。

去年，诺华的CAR-T疗法产品Kymriah以及Kite (已被吉利德收购)的CAR-T疗法产品Yescarta相继获批上市。

挫折，坚持，CAR-T疗法的成功经历了无数的磨难才取得初步的胜利，然而该疗法的成功很大程度上也应该归功于CD19这一靶点本身的性质。

CD19的表达只局限于正常以及癌变的B细胞以及前体B细胞，即使CAR-T细胞将人体内所有表达CD19的B细胞全部清除也不会对人体产生致命影响。但在非B细胞相关的癌症领域想要找到一款如此优秀的靶点却极其困难。

而CAR-T在实体瘤领域成功的可能性到底会有多大？

更多 科研头条 请访问 <https://www.iikx.com/news/topnews/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发