

嵌合抗原受体基因修饰 T 细胞免疫疗法在肿瘤治疗中的进展与挑战

Progress and challenges of chimeric antigen receptor gene modified-T cell immunotherapy to cancer

魏运雄 综述;曹雅青,赵明峰 审阅(天津医科大学一中心临床学院 天津市第一中心医院 血液内科,天津 300192)

[摘要] 过继细胞疗法(ACT)的飞速发展使其成为肿瘤治疗手段中的一项新热点,其中嵌合抗原受体修饰的T细胞(CAR-T细胞)在治疗恶性血液肿瘤中取得的成果更是令人振奋,同时也为实体瘤的治疗提供了新策略。但是,目前CAR-T细胞免疫疗法在肿瘤治疗过程中的局限性也日渐显露。本文旨在针对CAR-T细胞在肿瘤治疗中的研究进展及治疗中的挑战予以简要探讨。

[关键词] 嵌合抗原受体修饰的T细胞;过继细胞疗法;血液系统恶性肿瘤;实体瘤

[中图分类号] R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)08-0904-06

目前,过继细胞疗法(adoptive cell therapy, ACT)主要有三种,即肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、T细胞受体(TCR)和嵌合抗原受体(CAR)基因修饰T细胞。TIL是通过手术切除肿块,从分离的肿瘤活检样本中对TIL进行收集并扩增,最后回输到患者体内^[1]。TCR-T细胞免疫疗法是通过采集外周血中T细胞,在体外进行基因修饰,使其表达特定靶向肿瘤抗原的TCR,增强T细胞对特定癌症细胞抗原的识别能力和进攻能力,这种途径具有MHC限制性。研究^[2]发现,许多癌症可通过下调MHC或使MHC不表达而逃避T细胞介导的免疫应答。嵌合抗原受体(CAR)工程化T细胞的出现克服了MHC限制性作用,因为其直接与肿瘤抗原结合,不受MHC限制性作用影响,同时也能像TCR工程化T细胞一样更有效地识别并进攻肿瘤细胞^[3]。因此,相比之下,CAR-T细胞免疫疗法在治疗恶性肿瘤方面有更广阔的前景。本文以CAR-T细胞免疫疗法在当下的进展为基础,分析其潜在问题并探讨最新的方法来解决这些问题。

1 CAR-T细胞的发展

CAR-T细胞是通过采集患者或者供者外周血中T细胞,通过基因修饰改造将CAR基因导入T细胞,使其表达特定受体以结合特定肿瘤相关抗原,在体外进行大量扩增后回输给患者,这些CAR-T细胞在体内与肿瘤相关抗原特异性结合后,将信号传到细胞内,使T细胞增殖活化,同时释放细胞因子,从而发挥其靶向抗肿瘤作用^[4]。

CAR通常由抗原识别区,即鼠或人源化单链可变片段(single chain variable fragment scFv)、铰链或间隔结构域、穿膜及胞内结构域四个部分组成,胞内

结构域包括一个或多个共刺激分子(通常为CD28或4-1BB)和主要信号结构域(通常为CD3- ζ 链)。根据胞内结构域的组成,可将CAR-T细胞分四代:第一代仅有主要信号结构域,即CD3- ζ 链;第二代在胞内结构域中增加了一个共刺激分子,如CD28;第三代在胞内结构域中增加两个或多个共刺激分子,如CD28和4-1BB、CD28和OX40;第四代又称TRUCK T细胞,其在原有基础上,另外用组成型或诱导型表达盒修饰转基因蛋白,如某种细胞因子,这种CAR-T细胞可以在激活时分泌细胞因子,同时能够号召其他先天免疫细胞(巨噬细胞或树突状细胞)攻击肿瘤细胞并调节肿瘤微环境^[4-5]。

2 CAR-T细胞在肿瘤治疗中的应用

2.1 血液恶性肿瘤

CAR-T细胞治疗进入公众的眼球是在2013年,美国费城儿童医院^[6]报道,化疗难治性急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)患儿经过CAR-T治疗后成功获得了完全持久缓解状态,在该临床试验中的两名儿童都是对化疗药复发难治的B细胞ALL,经过CAR-T治疗后,两名患儿都有缓解,

[基金项目] 天津市卫生计生委科技基金重点攻关项目(No. 16KG110)。Project supported by the Key Research Project of Science and Technology Foundation from Health and Family Planning Commission of Tianjin City(No. 16KG110)

[作者简介] 魏运雄(1995-),男,硕士生,主要从事血液肿瘤免疫治疗研究,E-mail: 568453389@qq.com

[通信作者] 赵明峰(ZHAO Mingfeng, corresponding author),博士,主任医师,教授,博士生导师,主要从事肿瘤免疫治疗、红细胞异常、造血调控及相关疾病的研究,E-mail: mingfengzhao@sina.com

其中一例完全持久缓解,但另一例却出现了CD19逃逸变异。尽管如此,这项临床试验中成功的这一病例仍然极大的鼓舞了人们对CAR-T细胞疗法的探索。2014年该团队^[7]再次报道招募的30例ALL患者中,用CD19-CAR-T细胞治疗后有27例完全缓解(complete remission, CR),即CR为90%;6个月无事件生存率67%;总生存率78%。

CAR-T细胞在治疗慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse Large B Cell Lymphoma, DLBCL)和多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)等血液恶性肿瘤方面也取得了卓越的成绩^[8-11]。通过CD123-CAR-T细胞治疗急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)的研究也证实了CD123可能成为治疗AML的新靶点^[12],BUDDE等^[13]在2017年美国血液病学年会(American Society of Hematology, ASH)上公布的用CD123-CAR-T细胞治疗AML在临床试验中的成功更是振奋人心。同年,美国食品和药物管理局(FDA)首次批准了两种靶向CD19-CAR-T细胞:Tisagenlecleucel和Axicabtagene ciloleucel,它们可以用于治疗B-ALL和成人大B细胞淋巴瘤^[14]。MAUDE等^[15]对Tisagenlecleucel治疗儿童和青年复发难治B-ALL进行了II期临床试验,该研究纳入了92名患者,75名患者成功输注,3个月内总缓解率为81%,且微小残留病灶阴性,同时无事件生存率为73%,总生存率90%。SCHUSTER等^[16]又用Tisagenlecleucel对复发难治的弥漫大B细胞淋巴瘤展开了一项单中心IIa期临床试验,该试验招募了238位患者,其中纳入此项试验的有165人,最后接受输注的有111人,其中95人接受美国制造的Tisagenlecleucel,其中2人因为输注时间原因被剔除,可观察的93人中最佳客观反应率(objective response rate, ORR)为52%,即40%的完全反应率和12%部分反应率。患者无疾病进展生存12个月为83%。在165位入组患者中总体反应率为34%,中位总生存期为8.3个月,第12个月生存率估计为40%。随后在2018年ASH上公布的数据^[17]显示,所有反应者在12个月和18个月的无复发生存率均为64%。

2.2 实体肿瘤

基于CAR-T细胞免疫疗法在治疗血液恶性肿瘤方面取得的重大突破,其在治疗实体肿瘤中也初露锋芒,CHRISTAL等^[18]用GD2-CAR-T细胞疗法治疗成神经细胞瘤,该试验招募了19例患者,其中8例无活动性疾病,11例有活动性疾病,经过GD2-CAR-T细胞治疗后总生存期(overall survival, OS)中位数为931天,且无活动性疾病的OS比有活动性疾病的长;

3例患者获得CR,1例为部分缓解(partial remission, PR),同时也说明了可能CAR-T细胞长期低水平存在与临床治疗效果正相关。用CAR-T细胞治疗肝癌的研究也层出不穷,复旦大学医学院GAO等^[19]用小鼠体内实验证实了用第三代GPC3靶向CAR-T细胞治疗肝癌可以杀死GPC3阳性的肝癌细胞,这为后期肝癌的临床实验提供了一定基础。用CD-133靶向CAR-T细胞治疗多种晚期转移性恶性肿瘤的I期临床试验(NCT02395250)^[20]显示出用CAR-T细胞治疗CD133阳性恶性肿瘤患者的可行性、可控毒性和有效活性。该试验招募了23名患者,其中14例为肝癌、7例为胰腺癌、2例为结直肠癌,经过CD-133-CART治疗后,23名患者中3例为PR,14例病情稳定(stable disease, SD),3个月的疾病控制率为65.2%,无进展生存中位数为5个月。WATANABE等^[21]证明靶向间皮素CAR-T细胞(meso-thelinredirected chimeric antigen receptor T cell, meso-CAR T cell)联合释放TNF- α 和IL-2的溶瘤腺病毒(oncolytic adenoviruses-TNF- α -IL-2, OAd-TNF- α -IL-2)可以增强meso-CAR T对胰腺导管腺癌的治疗。OAd-TNF α -IL-2可以增强meso-CAR-T对Capan-2肿瘤细胞株的裂解,同时可以激活T细胞并诱导T细胞增殖,使肿瘤浸润淋巴细胞增多,宿主体内T细胞及CAR-T细胞在肿瘤周围聚集,Ad-mTNFa-mIL2可以改变肿瘤微环境中的免疫抑制状态和宿主的免疫状态,诱导巨噬细胞M1极化和树突状细胞成熟,联合应用meso-CAR-T可以增强其在胰腺导管腺癌中的治疗作用。同时CAR-T细胞在治疗非小细胞肺癌、肾细胞癌、HER2阳性肉瘤、卵巢癌^[22]及结直肠癌^[23]等实体瘤方面都有一定效果,尽管没有像血液系统一样疗效显著,但仍然给临床在治疗恶性实体瘤时提供了新方向^[14]。

3 问题和对策

随着CAR-T细胞在治疗恶性肿瘤中越来越多的应用与研究,副作用也随之暴露出来。对当前CAR-T细胞在肿瘤治疗中的挑战及最新的应对策略探讨如下。

3.1 脱靶效应与肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)的选择

CAR-T细胞输注进体内后不仅可以杀死表达特定靶向抗原的肿瘤细胞,也能够杀死表达靶向抗原的正常细胞。在探索CAR-T细胞治疗恶性肿瘤初期,最令人印象深刻的一例脱靶效应是2010年MORGAN等^[24]报道的用CAR-T细胞治疗一名ERBB2高表达的结肠癌患者的病例,该患者在输注

CAR-T细胞15 min后出现呼吸窘迫,胸片显示广泛肺浸润,最终在5 d后死亡,其死亡的原因可能是肺部低水平的ERBB2表达,使CAR-T细胞聚集在肺部引起了严重的细胞因子风暴。因此,选择合适的靶向抗原是构建CAR-T细胞的首要步骤。基于对新的安全靶点的不断探索,JOHN等^[25]发现了以白细胞免疫球蛋白样受体-B4(leukocyte immunoglobulin-like receptor-B4, LILRB4)为新靶点去治疗AML,这种anti-LILRB4 CAR-T细胞可以特异性靶向AML细胞,且对正常造血祖细胞无毒性,相比以CD33、CD123、CD44、CD147为靶点治疗AML而言,这种新靶点可以在治疗AML的同时较大限度地降低脱靶毒性风险。正常细胞和肿瘤细胞中都广泛表达EGFR,EGFR的失调与上皮肿瘤有关,如胰腺癌、肺癌、头颈部鳞状细胞癌、结直肠癌和乳腺癌。有研究^[26]显示EGFRvIII-CAR-T细胞可以杀死EGFRvIII阳性的胶质瘤细胞,但是由于实体肿瘤中的许多肿瘤细胞表面抗原的异质性,使抗原的表达是可变的,因此想让EGFRvIII-CAR-T细胞实现持续的抗肿瘤作用也是有限的,这也是实体肿瘤中选择合适的TAA的一大难题。鉴于肿瘤细胞表面抗原的异质性使靶抗原是多变的,理想的CAR-T细胞识别的靶抗原应该在患者的癌细胞表面过度表达,在正常组织中表达为零或极低。为了避免对正常组织造成损伤,新的技术要更快发展,如单细胞RNA测序,这种方法可以为TAA选择时提供更准确的抗原表达谱,能够更好地预测新型CAR-T细胞的功效和毒性^[27]。

3.2 细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)及神经毒性

CRS是CAR-T细胞输注进体内后与带有肿瘤抗原的细胞接触后大量增殖,对肿瘤细胞大量杀伤,并产生一系列细胞因子后释放,对患者身体造成系列性相关损害的综合征。它是一种炎症反应综合征,以高烧、肌痛和不适为特征,在严重的情况下,会有血管渗漏伴有低血压、缺氧、凝血功能障碍,多器官毒性甚至死亡。神经毒性又称为CAR相关的脑病综合征(CAR-related encephalopathy syndrome, CRES),是CAR-T细胞输注后,在数日内出现神经毒性,表现为长期头痛、意识减退和谵妄,更严重的甚至出现脑出血、癫痫发作和死亡等症状的一种综合征^[28-29]。传统上,当患者发生CRS时,一般用托珠单抗阻断白介素6受体(IL-6R)和糖皮质激素治疗,但长期系统性使用糖皮质激素会削弱CAR-T细胞的持久性。虽然托珠单抗可以治疗CRS,但对CRES无太大作用,其可能的原因是它不能通过血脑屏障。用阿那白滞素(anakinra)阻断白介素1受体(IL-1R)不仅可以治疗

CRS还可以抵消神经毒性,同时不管是阻断IL-6R还是IL-1R都对CAR-T细胞抗肿瘤作用没有影响^[29-30]。2018年ASH年会上新公布的非慢病毒载体的P-BCMA-101 CAR-T细胞治疗复发难治性MM与传统的抗BCMA-CAR-T产品相比具有较好的优势,不仅CRS显著减少,且无神经毒性,同时也会产生更多的干细胞记忆T细胞(stem cell memory T phenotype, TSCM)^[31]。同时也有报道^[32]提示,在CAR-T细胞中引入自杀基因调控其凋亡,当发生CRS时可以通过自杀基因终止CAR-T细胞激活后的增殖作用。

STERNER等^[33]通过在体外和体内实验中使用GM-CSF抑制剂lenzilumab,发现这种抑制剂没有影响CAR-T19的功能。接着他们对接受异种移植的患者使用lenzilumab,发现CAR-T19细胞增殖增强,而且白血病控制更持久。在CRS和神经炎症原发性ALL异种移植模型中,抑制GM-CSF使中枢神经系统中髓样T细胞浸润减少,同时大大减少了神经炎症,预防了CRS的发生。最后,他们在CAR-T细胞制造过程中用CRISPR/Cas9对GM-CSF的干扰,生成GM-CSF缺失CAR-T19细胞,这种GM-CSF^{ko} CAR-T细胞与CAR-T19细胞相比,GM-CSF^{ko}的CAR-T19细胞不仅保证了正常功能,而且在体内增强了抗肿瘤效应,提高了移植瘤模型整体存活率。

3.3 CAR-T细胞在体内作用的持久性

随着时间的推移,患者体内残留的CAR-T细胞可能会越来越少,从而导致杀死肿瘤细胞的作用减弱,甚至会引起复发。CAR-T细胞治疗恶性肿瘤时,CAR-T细胞低水平持续存在与临床治疗效果正相关^[18]。为解决这一问题,KAGOYA等^[34]开发了包含JAK STAT信号域的新型CAR-T细胞:28-IL2RB-z(YXXQ) CAR-T细胞,与仅具有CD28或4-1BB结构域的CAR-T细胞相比,28-IL2RB-z(YXXQ)CAR-T细胞编码白细胞介素(IL)-2受体β链(IL-2Rβ)和结合酪氨酸-XX-谷氨酰胺(YXXQ)基序的截短的细胞质区以及CD3z和CD28结构域,其触发的基因表达谱类似于IL-21处理触发的基因表达谱,与28-z和BB-z CAR-T细胞相比,它为T细胞提供了独特的功能特性,包括更强的增殖能力和效应功能。在肿瘤模型中表现出优异的体内持久性和抗肿瘤效果,但同时也增加了CRS的风险。

3.4 肿瘤细胞上抗原靶点的丢失

影响CAR-T细胞在体内发挥抗肿瘤作用的因素可能还有肿瘤细胞上抗原的丢失,如在难治复发的B-ALL中,用CD19-CAR-T治疗后有相当高比例的患者会出现CD19靶抗原丢失^[35],这又是CAR-T细胞治疗中的一大难题。构建包含双靶点的CAR-T细胞

可能成为这一问题的解决方法之一。在2018年ASH年会上, GARDNER等^[36]公布的在I期临床试验(NCT03330691)中用CD19和CD22双靶点的CAR-T细胞治疗难治复发B-ALL时治疗效果较单靶点CD19或CD22更好,可以避免单靶点时出现的靶抗原丢失问题。

3.5 肿瘤干细胞的污染

在RUELLA等^[37]报道的一个罕见病例中,可能直接证实了肿瘤干细胞的存在。该患者为一名B-ALL,在经过CD19-CAR-T细胞治疗后,该患者在第28天获得CR,但在第261天出现了复发,最终去世。经过该团队的研究发现可能是该患者的单个B细胞白血病细胞在T细胞基因修饰过程中也被进行了修饰,使其CD19的靶点被掩盖,从而逃脱了CD19-CAR-T细胞的识别与攻击,再经过在体内不断扩增,造成该患者的复发与死亡。这一罕见病例为CAR-T细胞制造技术敲响了警钟,说明需要改进制造技术,以便从工程T细胞中清除残留的污染肿瘤细胞。严格的CAR-T细胞制造技术是解决这项罕见副作用的唯一途径,只有制造更加规范化、系统化、严格化,才不会出现肿瘤干细胞的污染问题。

3.6 CAR-T细胞在实体瘤周围聚集能力

在治疗血液系统恶性肿瘤时,CAR-T细胞可以与肿瘤细胞直接接触而有效发挥其抗肿瘤作用。但是在实体瘤治疗过程中,CAR-T细胞需要从外周血中有效转移至实体肿瘤组织才能发挥其抗肿瘤作用,这种行为可能导致迁移到实体瘤组织的CAR-T细胞数量与活性大打折扣,从而影响治疗效果。在实体瘤TMA中存在肿瘤相关成纤维细胞(CAF)及致密的细胞外基质(ECM),ECM对肿瘤的生物行为及免疫系统的重塑具有多重作用。在ECM中的一些蛋白对肿瘤细胞的增殖和迁移具有重要的维持作用,T细胞在攻击基质丰富的实体瘤时几乎没有穿透力和在肿瘤部位聚集的能力,这导致了CAR-T细胞抗肿瘤作用降低。因此,提高CAR-T细胞在富含基质的实体瘤中特异性降解ECM的能力,同时又不损害其细胞毒性,可以增强其抗肿瘤活性^[38]。为了使CAR-T细胞在实体瘤中发挥抗肿瘤作用,ADACHI等^[39]设计出了可以表达IL7和CCL19两种趋化因子的新一代CAR-T细胞(又称7×19CAR-T细胞),由于CCL19可以募集外周T细胞及树突状细胞进入淋巴组织,而IL7在促进T细胞增殖同时可以维持T细胞稳定,7×19CAR-T细胞增值能力、募集免疫细胞能力以及抗肿瘤能力都更强,而且还会产生大量的癌症记忆T细胞,起到持续抗肿瘤的作用。

3.7 肿瘤微环境(tumor microenvironment, TMA)的

免疫抑制作用

肿瘤细胞重塑肿瘤微环境是通过直接分泌抑制T细胞功能的细胞因子或者招募免疫抑制细胞间接抑制T细胞功能。肿瘤微环境对CAR-T细胞活性的抑制包括缺氧、代谢重编程条件及通过细胞免疫检查点受体的免疫抑制信号传导,这些都可以抑制CAR-T细胞的抗肿瘤作用^[40]。改变肿瘤微环境中的免疫抑制作用或者重建肿瘤微环境可能会成为用CAR-T治疗实体瘤的有效方法之一。研究人员^[41-42]设计了含有一种有效药物混合物的脂质纳米颗粒,其可以阻断肿瘤微环境中的抑制细胞,刺激关键的抗肿瘤免疫细胞,同时为CAR-T细胞开辟了一个窗口,使其在实体瘤中的治疗效果更好。再者,联合使用免疫检查点抑制剂也可以更好地发挥CAR-T细胞的抗肿瘤作用。基于这一思路,RAFIQ等^[43]设计了一款可以直接分泌PD-1阻断性scFv的CAR-T细胞,这种CAR-T细胞相较于直接用免疫抑制剂毒性更小,且抗肿瘤作用更强。

4 小结

CAR-T细胞在治疗血液恶性肿瘤领域中取得的确切疗效,使其成为当下肿瘤生物治疗中最有前景的治疗方式,甚至被认为是最有可能治愈癌症的策略。但不管是在治疗血液恶性肿瘤还是在治疗实体肿瘤中,该方法都有一定的局限性。在本综述中,对血液恶性肿瘤和实体瘤在用CAR-T细胞治疗中当下遇到的困难做了简要概述,并探讨了一定的解决方法。在The Scientist网站上公布的数据显示,我国CAR-T临床试验已超过美国成为全球第一大展开CAR-T临床试验的国家。随着未来对CAR的设计和临床试验结果的不断积累和发展,CAR-T细胞治疗将是治疗肿瘤的一把利剑。

[参考文献]

- [1] JUNE C H, RIDDELL S R, SCHUMACHER T N. Adoptive cellular therapy: a race to the finish line[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(280): 280ps7. DOI:10.1126/scitranslmed.aaa3643.
- [2] GARRIDO F, RUIZ-CABELLO F, APTSIAURI N. Rejection versus escape: the tumor MHC dilemma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(2): 259-271. DOI:10.1007/s00262-016-1947-x.
- [3] LIM W A, JUNE C H. The principles of engineering immune cells to treat cancer[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 724-740. DOI: 10.1016/j.cell.2017.01.016.
- [4] GAUTHIER J, YAKOUB-AGHA I. Chimeric antigen-receptor T-cell therapy for hematological malignancies and solid tumors: Clinical data to date, current limitations and perspectives[J]. *Curr Res Transl Med*, 2017, 65(3): 93-102. DOI: 10.1016/j.retram.2017.08.003.

- [5] CHMIELEWSKI M, ABKEN H. TRUCKS: the fourth generation of CARs[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(8): 1145-1154. DOI: 10.1517/14712598.2015.1046430.
- [6] GRUPP S A, KALOS M, BARRETT D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(16): 1509-1518. DOI:10.1056/NEJMoa1215134.
- [7] 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.
- [8] PORTER D L, LEVINE B L, KALOS M, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(8): 725-733. DOI:10.1056/NEJMoa1103849.
- [9] GARFALL A L, MAUS M V, HWANG W T, et al. Chimeric antigen receptor T cells against CD19 for multiple myeloma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(11): 1040-1047. DOI:10.1056/NEJMoa1504542.
- [10] KOCHENDERFER J N, SOMERVILLE R P T, LU T Y, et al. Long-duration complete remissions of diffuse large B cell lymphoma after anti-CD19 chimeric antigen receptor T cell therapy[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(10): 2245-2253. DOI:10.1016/j.ymthe.2017.07.004.
- [11] MIKKILINENI L, KOCHENDERFER J N. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for multiple myeloma[J]. *Blood*, 2017, 130(24): 2594-2602. DOI:10.1182/blood-2017-06-793869.
- [12] MARDIROS A, DOS SANTOS C, MCDONALD T, et al. T cells expressing CD123-specific chimeric antigen receptors exhibit specific cytolytic effector functions and antitumor effects against human acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2013, 122(18): 3138-3148. DOI:10.1182/blood-2012-12-474056.
- [13] BUDDE L, SONG J Y, KIM Y, et al. Remissions of acute myeloid leukemia and blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm following treatment with CD123-Specific CAR T Cells: A First-in-Human Clinical Trial[J/OL]. *Blood*, 2017, 130(Suppl 1):811[2019-03-10]. http://www.bloodjournal.org/content/130/Suppl_1/811.
- [14] KOSTI P, MAHER J, ARNOLD J N. Perspectives on chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy for solid tumors[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1104[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5972325/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.01104.
- [15] MAUDE S L, LAETSCH T W, BUECHNER J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5): 439-448. DOI: 10.1056 / nejmoa1709866.
- [16] SCHUSTER S J, BISHOP M R, TAM C S, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(1): 45-56. DOI:10.1056/NEJMoa1804980.
- [17] SCHUSTER S J, BISHOP M R, TAM C, et al. Sustained disease control for adult patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: an updated analysis of Juliet, a global pivotal phase 2 trial of tisagenlecleucel[J/OL]. *Blood*, 2018, 132(Suppl1): 6[2019-03-10]. http://www.bloodjournal.org/content/132/Suppl_1/1684. DOI: 10.1182/blood-2018-99-115252
- [18] 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.
- [19] GAO H, LI K, TU H, et al. Development of T cells redirected to glypican-3 for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6418-6428. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-14-1170.
- [20] WANG Y, CHEN M X, WU Z Q, et al. CD133-directed CAR T cells for advanced metastasis malignancies: A phase I trial[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(7): e1440169[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993480/>. DOI: 10.1080 / 2162402X.2018.1440169.
- [21] WATANABE K, LUO Y P, DA T, et al. Pancreatic cancer therapy with combined mesothelin-redirected chimeric antigen receptor T cells and cytokine-armed oncolytic adenoviruses[J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(7): 99573[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5928866/>. DOI:10.1172/jci.insight.99573.
- [22] JINDAL V, ARORA E, GUPTA S, et al. Prospects of chimeric antigen receptor T cell therapy in ovarian cancer[J/OL]. *Med Oncol*, 2018, 35(5): 70[2019-03-10]. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12032-018-1131-6>. DOI:10.1007/s12032-018-1131-6.
- [23] MAGEE M S, ABRAHAM T S, BAYBUTT T R, et al. Human GUCY2C-targeted chimeric antigen receptor (CAR)-expressing T cells eliminate colorectal cancer metastases[J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(5): 509-516. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-16-0362.
- [24] MORGAN R A, YANG J C, KITANO M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 843-851. DOI:10.1038/mt.2010.24.
- [25] JOHN S, CHEN H Y, DENG M, et al. A novel anti-LILRB4 CAR-T cell for the treatment of monocytic AML[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(10): 2487-2495. DOI:10.1016/j.ymthe.2018.08.001.
- [26] MIRZAEI H R, RODRIGUEZ A, SHEPPHARD J, et al. Chimeric antigen receptors T cell therapy in solid tumor: challenges and clinical applications[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1850[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5744011/>. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01850.
- [27] WATANABE K, KURAMITSU S, POSEY A D Jr, et al. Expanding the therapeutic window for CAR T cell therapy in solid tumors: the knowns and unknowns of CAR T cell biology[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2486[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6212550/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.02486.
- [28] ROONEY C, SAUER T. Modeling cytokine release syndrome[J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 705-706. DOI:10.1038/s41591-018-0068-9.
- [29] LIU D L, ZHAO J J. Cytokine release syndrome: grading, modeling, and new therapy[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 121[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6154787/>. DOI:10.1186/s13045-018-0653-x.
- [30] GIAVRIDIS T, VAN DER STEGEN S J C, EYQUEM J, et al. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade[J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 731-738. DOI:10.1038/s41591-018-0041-7.
- [31] GREGORY T, COHEN A D, COSTELLO C L, et al. Efficacy and safety of P-Bcma-101 CAR-T cells in patients with relapsed/refractory (r/r) multiple myeloma (MM)[J/OL]. *Blood*, 2018, 132(Suppl 1): 1012-1012[2019-03-10]. http://www.bloodjournal.org/content/132/Suppl_1/1012. DOI: 10.1182/blood-2018-99-111419.
- [32] PERALES M A, KEBRIAEI P, KEAN L S, et al. Building a safer and faster CAR: seatbelts, airbags, and CRISPR [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(3S): S15-S19. DOI: 10.1016 / j.

- bbmt.2017.12.789.
- [33] STERNER R M, SAKEMURA R, COX M J, et al. GM-CSF inhibition reduces cytokine release syndrome and neuroinflammation but enhances CAR-T cell function in xenografts[J]. *Blood*, 2019, 133(7): 697-709. DOI:10.1182/blood-2018-10-881722.
- [34] KAGOYA Y, TANAKA S, GUO T X, et al. A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects[J]. *Nat Med*, 2018, 24(3): 352-359. DOI: 10.1038/nm.4478.
- [35] FRY T J, SHAH N N, ORENTAS R J, et al. CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy[J]. *Nat Med*, 2018, 24(1): 20-28. DOI:10.1038/nm.4441.
- [36] GARDNER R, ANNESLEY C, FINNEY O, et al. Early clinical experience of CD19 x CD22 dual specific CAR T cells for enhanced anti-leukemic targeting of acute lymphoblastic leukemia[J / OL]. *Blood*, 2018, 132(Suppl 1): 278[2019-03-10]. http://www.blood-journal.org/content/132/Suppl_1/278. DOI: 10.1182/blood-2018-99-113126
- [37] RUELLA M, XU J, BARRETT D M, et al. Induction of resistance to chimeric antigen receptor T cell therapy by transduction of a single leukemic B cell[J]. *Nat Med*, 2018, 24(10): 1499-1503. DOI: 10.1038/s41591-018-0201-9.
- [38] ZHANG E H, GU J Y, XU H M. Prospects for chimeric antigen receptor-modified T cell therapy for solid tumors[J/OL]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 7[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5767005/>. DOI:10.1186/s12943-018-0759-3.
- [39] ADACHI K, KANO Y, NAGAI T, et al. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(4): 346-351. DOI:10.1038/nbt.4086.
- [40] MORGAN M A, SCHAMBACH A. Engineering CAR-T cells for improved function against solid tumors[J / OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2493[2019-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6217729/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.02493.
- [41] ZHANG F, STEPHAN S B, ENE C I, et al. Nanoparticles that reshape the tumor milieu create a therapeutic window for effective T-cell therapy in solid malignancies[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(13): 3718-3730. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-0306.
- [42] SMITH T T, STEPHAN S B, MOFFETT H F, et al. In situ programming of leukaemia-specific T cells using synthetic DNA nanocarriers[J]. *Nat Nanotechnol*, 2017, 12(8): 813-820. DOI: 10.1038/nnano.2017.57.
- [43] RAFIQ S, YEKU O O, JACKSON H J, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy in vivo[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847-856. DOI: 10.1038/nbt.4195.

[收稿日期] 2019-03-15

[修回日期] 2019-07-08

[本文编辑] 黄静怡