

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.014

· 转化医学 ·

CAR-T 细胞治疗实体瘤临床转化的研究进展

Advances of clinical transformation of CAR-T cell in solid tumor therapy

黄明燕 综述;张意,曹雪涛 审阅(第二军医大学免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室,上海 200433)

[摘要] T 细胞能够识别肿瘤抗原并特异性杀伤癌变细胞,是杀伤肿瘤的主要执行细胞,也是临床上研究最多的肿瘤治疗性免疫细胞。嵌合抗原受体基因修饰 T(chimeric antigen receptor gene-modified T, CAR-T)细胞治疗能够绕过抗原提呈和 MHC 的限制,已在 B 急性淋巴细胞白血病(B-acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)治疗中取得显著效果。近年来,越来越多的研究结果表明, CAR-T 细胞同样可以用于实体瘤的治疗,如黑色素瘤、神经胶质瘤、卵巢癌、前列腺癌、肝细胞癌及其他常见实体瘤(转移性乳腺癌、胰腺癌)等。本文将对近年来 CAR-T 细胞免疫疗法在实体瘤临床转化的研究进展作一综述,主要从免疫抑制肿瘤微环境、脱靶毒性与细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、肿瘤的异质性三个方面阐述 CAR-T 细胞治疗实体瘤的瓶颈,并对未来的发展加以展望。

[关键词] 嵌合抗原受体基因修饰 T(CAR-T)细胞;黑色素瘤;肝细胞癌;神经胶质瘤;卵巢癌

[中图分类号] R730.51; **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)02-0183-06

传统放、化疗作为目前治疗肿瘤的主要手段,毒副作用大,严重影响患者的生活质量。随着免疫细胞及炎症因子在肿瘤微环境中的发现,正常机体免疫系统监视和杀伤癌细胞的作用逐渐被揭示,肿瘤免疫细胞疗法也因此迎来了属于自己的时代。2013 年《科学》杂志把免疫细胞疗法评为当年的十大科技进展之首。当前采用的多种细胞免疫治疗肿瘤均取得了良好的效果,例如 DC、NK 细胞、T 细胞等。嵌合抗原受体基因修饰 T(chimeric antigen receptor gene-modified T, CAR-T)细胞治疗是一种改造后的 T 细胞免疫治疗,在血液肿瘤治疗中取得较好的临床效果,并逐渐延伸到实体瘤临床治疗中^[1]。本文介绍 CAR-T 细胞治疗实体肿瘤,如黑色素瘤、胶质瘤、卵巢癌等的临床转化研究进展,并对 CAR-T 细胞治疗的未来加以展望。

1 CAR-T 细胞治疗肿瘤的基本机制

细胞毒性 T 淋巴细胞是机体抗肿瘤最主要的效应性淋巴细胞,但由于 T 细胞杀伤活性受到 MHC-I 类分子限制,大大降低 T 细胞的治疗效果,对此, Gross 等^[2]提出了 CAR-T 细胞治疗的概念。

CAR-T 细胞是将抗体重链和轻链的不同区域与细胞内信号链如 CD3- ζ 组合在一起,包含共刺激结构域 CD28 或 CD137 以充分激活的 T 细胞^[3]。第一代 CAR-T 细胞只能提供 T 细胞活化信号,在体内难以增殖,抗瘤活性并不高;改进后的第二代 CAR-T 细胞加入了共刺激分子,有效提高了肿瘤杀伤效

应;目前采用的第三代 CAR-T 细胞则能够搭载多个共刺激分子结构域,使得 CAR-T 细胞的增殖活性和细胞因子释放量都明显增加,能有效延长其在体内的生存时间,并具有更强的细胞毒活性。如今, CAR-T 细胞在原有基础上增加了调控功能,如自杀启动型^[4]、负性调节型^[5]、开关启动型^[6] CAR-T 细胞,能更好地控制 CAR-T 细胞对肿瘤细胞的杀伤反应。

CAR 研究最常用的靶点是 CD19,对血液性疾病有良好的治疗效果。近 20 年的 CAR-T 细胞研究表明,其对 B 细胞恶性肿瘤的治疗效果一直显著且十分稳定,能有效延长癌症晚期患者的生存期^[7]。

2 CAR-T 细胞治疗的临床转化概况

CAR-T 细胞首先尝试用于治疗 CD19 阳性的血液病肿瘤。2010 年 Rosenberg 课题组^[8]以 CD28 作为共刺激分子,率先发表了抗 CD19 分子的 CAR-T 细胞临床治疗结果,患者病情得到较长时间部分缓

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(No. 2015CB964403, 2013CB530502)。Project supported by the National Key Basic Research Program of China (No. 2015CB964403, 2013CB530502)

[作者简介] 黄明燕(1993-),女,硕士生,主要从事肿瘤免疫基础研究, E-mail: huangmy31@163.com

[通信作者] 张意(ZHANG Yi, corresponding author),博士,副教授,主要从事分子免疫学和肿瘤免疫学研究, E-mail: zhangyismmu@126.com;曹雪涛(CAO Xuetao, co-corresponding author),博士,教授,中国工程院院士,主要从事天然免疫与炎症、肿瘤免疫学研究, E-mail: caoxt@immunol.org

解(PR)。之后又有研究者^[9-10]用4-1BB共刺激分子表达的CD19-CAR-T细胞对3例白血病患者开展临床试验, 治疗效果显著。

各大生物公司研发的CAR-T细胞治疗肿瘤药物在临床上也取得良好效果。2014年诺华公司用于治疗急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)的CTL019, 美国食药总署(Food and Drug Administration, FDA)授予其“突破性疗法”地位。2015年12月Kite公司公布ZUMA-1针对难治性恶性非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)的I期临床数据显示, 7例弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)患者中4例完全缓解(CR), 1例PR; 其II期临床试验被FDA授予突破性治疗药物资格。

基于T细胞自然归巢于血液器官(如血液、骨髓、淋巴结), 有助于CAR-T细胞在晚期难治性白血病与淋巴瘤上取得良好疗效, 但CAR-T细胞在实体瘤治疗上的临床转化还有待进一步研究和改进。

3 CAR-T细胞治疗实体瘤

3.1 CAR-T细胞治疗黑色素瘤

黑色素瘤携带大量突变基因, 表达大量肿瘤新抗原, 很容易被患者免疫系统识别, 免疫疗法用以治疗转移性黑色素瘤已经很长时间, 疗效显著^[11]。2006年首次在人体内回输经反转录病毒改造的正常循环中的淋巴细胞, 使其表达识别黑色素瘤分化抗原(melanoma antigen recognized by T cells 1, MART-1)的TCR, 能够介导肿瘤的消退^[12]。自然杀伤细胞激活受体(DNAX accessory molecule-1, DNAM-1)配体PVR(CD155)和nectin-2在多种肿瘤表面表达, 如人原发白血病、黑色素瘤、卵巢癌和神经胶质瘤等。体外共培养实验表明DNAM-1 CARs具有很强的抗肿瘤活性, 但IFN- γ 分泌量少; 荷瘤小鼠实验^[13]表明, DNAM-1/CD3 ζ 能够明显降低裸鼠黑色素瘤肿块。人内源性反转录病毒K(human endogenous retrovirus K, HERV-K)包膜(env)是一种特异性表达于黑色素瘤的肿瘤相关抗原, 免疫组化分析HERV-Kenv^[14]显示, HERV-Kenv只特异性表达于黑色素瘤, 而在正常组织中不表达, 体外增殖和激活HERV-K env CAR T后注射到小鼠A375-SM黑色素瘤移植模型中, 发现其具有很强的抗肿瘤效应, 预示这种CAR-T细胞有望进入临床治疗黑色素瘤。

调控型CAR-T细胞也率先用于黑色素瘤治疗。小分子药物AP1903诱导自杀型iCasp9-CAR, 在临床前和临床I期试验中已成功鉴定其可诱导自杀活

性, 并且第三代iCasp9-GD2-CAR安全性和活性评价将在临床I期试验中展开^[15]。

3.2 CAR-T细胞治疗神经胶质瘤

神经胶质瘤是常见的脑原位恶性肿瘤, 平均5年生存率低于10%^[16]。平足蛋白(podoplanin, PDPN)是表达于淋巴内皮细胞的一类黏蛋白样穿膜糖蛋白, 在多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)等多种实体瘤中高表达。有研究^[16]采用慢病毒表达第三代PDPN-CAR-T细胞治疗免疫缺陷小鼠, 能有效抑制小鼠颅内GBM移植块生长。同样, 用鼠源性表皮生长因子受体突变体CAR-T细胞治疗小鼠神经胶质瘤也取得良好治疗效果^[17]。

除了动物实验的成功, 神经胶质瘤的CAR-T细胞治疗研究还具备大量临床基础, 双唾液酸神经节苷脂(disialoganglioside 2, GD2)在GBM中高表达, 作为GBM特异性抗原被广泛研究。临床数据^[18]显示, GD2-CAR-T细胞在成神经细胞瘤(neuroblastoma, NBL)治疗中有一定疗效。第一例临床I/II期试验^[19-20]结果表明, 神经节苷脂GD2-CAR T治疗神经胶质瘤有一定抗肿瘤效果, 在体内能长期检测到获得性转移T细胞, 有2例临床试验用GD2-CARs治疗儿童NBL, 效果良好^[21]。因此, CAR-T细胞治疗有望作为NBL患者的备选治疗方案。

3.3 CAR-T细胞治疗卵巢癌

卵巢癌在发现前通常无症状, 全世界每年有超过14万人死于此病^[22]。NK细胞激活受体(natural-killer group 2 member D, NKG2D)配体NKG2DL广泛表达于卵巢癌细胞表面, 是免疫治疗的理想靶点。体外细胞共培养实验^[23]表明, NKG2D-CAR-T细胞能特异性识别并杀伤NKG2DL阳性卵巢癌细胞系, 而对NKG2DL阴性细胞不产生反应; 但体内实验则发现NKG2D-CAR-T增殖迟缓受阻, 可能因为激活体内其他T细胞表达NKG2DL引起。同样, B7同系物4(B7 homology 4, B7-H4)在卵巢癌中高表达, B7-H4-CAR-T细胞能特异性分泌IFN- γ 并裂解B7-H4阳性靶细胞, 小鼠实验^[24]也证实了B7-H4-CAR-T对人卵巢癌移植瘤具有良好的抗肿瘤活性, 但在治疗4~8周后产生致死性毒副作用。

抗原B7同系物6(B7 homology 6, B7H6)特异性表达于多种人类原位癌表面。B7H6-CAR-T细胞与B7H6⁺肿瘤细胞共培养显示很强的细胞毒作用, 同时伴有轻微自身免疫反应。荷瘤小鼠实验^[25]表明, B7H6-CAR-T细胞能增加RMA/B7H6淋巴瘤小鼠存活率, 减小卵巢癌小鼠模型中的肿瘤肿块, 给临床研究提供实验基础。黏蛋白16(mucin 16,

MUC16]在卵巢癌表面高表达,而正常组织中低表达,采用带有自分泌 IL-12 和自消除基因的 MUC16-CAR-T 细胞在临床治疗中,IL-12 能使 CAR-T 细胞持续时间延长,具有更强的细胞毒作用。临床 I 期剂量递增试验^[26]治疗 MUC16(ecto⁺)卵巢癌复发患者,这是第一次将 CAR-T 细胞直接通过腹腔注射到瘤内进行治疗,并成功通过安全性检测。

3.4 CAR-T 细胞治疗前列腺癌

前列腺癌多发于高龄男性,其死亡率仅次于肺癌。免疫疗法对前列腺癌术后微小病灶和转移病灶具有良好疗效。有研究^[27]构建人前列腺特异性膜抗原(human prostate-specific membrane antigen, hPSMA)高亲和力的 CAR 结构用于治疗前列腺癌,结果表明,表达 CAR 的慢病毒表达载体能短暂有效激活外周血单核细胞,促进其释放细胞因子,并产生对 hPSMA 阳性前列腺癌细胞的杀伤活性,绝大多数经 hPSMA-CAR-T 细胞处理的荷瘤小鼠能完全清除散发的新生肿瘤;同样,有研究^[28]发现,带有 P28BB ζ 结构域的 hPSMA-CAR-T 细胞在裸鼠模型中能够介导肿瘤血管消退。

另一种前列腺癌免疫治疗的常用靶标-前列腺干细胞抗原(prostate stem cell antigen, PSCA),实验用第三代 PSCA-CAR-T 细胞,包含 CD28、OX-40 和 CD3 ζ 信号通路结构域。体内外实验检测 PSCA-CAR-T 细胞因子分泌、自身增殖和肿瘤细胞杀伤能力,结果^[29]显示, PSCA-CAR-T 细胞能有效杀伤 PSCA 阳性肿瘤细胞;小鼠皮下瘤模型给予 PSCA-CAR T 治疗后能明显延缓肿瘤生长,延长小鼠生存期。另有研究^[30]将癌症干细胞(cancer stem cell, CSC)特异性抗原上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)受体作为 CAR 转导到人外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocytes, PBLs),发现这些表达了 EpCAM 受体的 PBLs 能有效抑制小鼠转移性 PC3 肿瘤的生长并延长小鼠存活期。

实际上, CAR-T 细胞治疗前列腺癌已经进入临床研究。临床 I 期研究^[31]结果显示,6 例前列腺癌患者化疗后使用 PSMA-CAR-T 细胞治疗,并伴随持续低剂量 IL-2 辅助注射治疗,其中 5 例成功治愈,预后检测无明显抗 PSMA 毒副作用。但由于大剂量 CAR-T 细胞对 IL-2 消耗大,临床效果受限,故在 II 期试验增加 IL-2 量,期望提高治疗效率^[31]。

3.5 CAR-T 细胞治疗肝细胞癌

肝细胞癌是我国发病率极高的恶性肿瘤之一。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝癌

常见的诱因。病毒药物虽然能抑制病毒复制,但难以清除病毒感染。有学者^[32]构建 CAR-T 细胞能够特异性靶向受 HBV 感染的肝细胞,清除 HBV;其实验构建能够结合 HBV 包膜蛋白 S 的 CAR-T 细胞,即 S-CAR-T 细胞,将带有 CD 45.1 标志的 S-CAR-T 细胞注射到 CD 45.2 标记的转基因小鼠中,发现 S-CAR-T 细胞能定位于小鼠肝脏并行使功能,HBV 复制能力得到有效控制,循环系统中的大量病毒抗原并不损伤或过度激活 S-CAR-T 细胞,整个杀伤过程对肝脏只有短暂的损伤,有望治疗人慢性 HBV 感染。对于原发性肝细胞癌,以早期肝细胞癌特异性分子标志物磷脂酰肌醇聚糖 3(glypican3, GPC3)和 AFP 作为 CAR 靶点均取得良好效果。GPC3-CAR-T 能够有效杀伤 GPC3 阳性肝细胞癌,而对 GPC3 阴性细胞不起反应,可用于治疗 GPC3 阳性肝细胞癌^[33]。实验^[34]表明, AFP-CAR-T 细胞能够选择性脱颗粒、释放细胞因子并裂解 AFP 双阳性肝癌细胞,而对其他单阳性或阴性细胞无反应,因此,免疫缺陷 Beige 荷瘤小鼠瘤内注射 AFP-CAR-T 细胞能够显著降低 HepG2 及 AFP 阳性肿瘤。肝转移是大肠癌患者死亡的主要原因, ECA 是大肠癌组织产生的一种糖蛋白,皮下肝动脉注射抗 ECA-CAR-T 细胞能够有效抑制 ECA 阳性肝转移。I 期临床^[35]结果表明,肝转移病灶坏死和纤维化程度明显增加,血清中 IFN γ 水平增加, CEA 水平下降,表明 ECA-CAR-T 细胞治疗具有临床活性,可进行下一阶段临床研究。

3.6 CAR-T 细胞治疗其他肿瘤

除以上提及的肿瘤外, CAR-T 细胞治疗在其他多种常见实体瘤中均取得了一定进展。如用携带抗 CD3/HER2 特异性双抗原的 CAR-T 细胞治疗转移性乳腺癌,对 HER2 阳性和 HER2 阴性肿瘤均能诱导抗肿瘤效应^[36];转移性肾癌荷瘤小鼠实验^[37]表明,用抗碳酸酐酶 IX、CAR-T 细胞联合分泌程序性死亡受体配体 1 抗体处理小鼠,能够明显抑制肿瘤生长,使得肿块变小,质量减少;同样在胰腺癌小鼠模型中,瘤内注射靶向胰腺癌干细胞 HER2 抗原的 CAR-T 细胞能够显著抑制肿瘤生长,甚至消除小鼠体内移植肿瘤^[38]。

4 CAR-T 细胞治疗实体瘤的瓶颈

CAR-T 细胞作为特异性肿瘤杀伤效应细胞在抗肿瘤免疫中表现出其特有的精准性、广泛性和持续性,一度被认为是治愈肿瘤的希望^[9, 39]。已有研究^[9, 12]表明, CAR-T 细胞治疗血液性肿瘤和黑色素瘤效果显著,其表达出大量已知的肿瘤新生抗原,且

抗原选择范围广、肿瘤靶向性好、对组织的毒副作用低,并且淋巴系统肿瘤无屏障作用及 T 细胞的归巢性使其更适合治疗血液性肿瘤。然而, CAR-T 细胞靶向实体瘤治疗并不理想,因实体瘤缺少肿瘤特异性抗原及免疫抑制性的肿瘤组织微环境将阻碍 CAR-T 细胞的治疗^[40]。

4.1 免疫抑制肿瘤微环境

实体瘤的肿瘤微环境是 CAR-T 细胞执行功能的最主要障碍。其一是它存在天然物理屏障,如在神经系统肿瘤中,有抗癌功能的 CAR-T 细胞如何跨越血脑屏障是一个问题。有研究者让 CAR-T 细胞表面表达细胞因子受体,这样有助于找到肿瘤源头而实现“归巢”^[41]。其二是肿瘤微环境的免疫抑制作用,主要由肿瘤微环境中的基质细胞、调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)、骨髓来源的抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)、抑制性细胞因子以及一些其他细胞所产生的抗肿瘤免疫反应^[42-43]。有研究^[44]报道, GD2-CAR-T 细胞和趋化因子受激活后调节正常 T 细胞表达和分泌因子及 IL-15,其联用能够促进 T 细胞在肿瘤微环境存活,更好发挥抗肿瘤功能。另有研究^[45]发现, T 细胞的 Akt 活性在肿瘤微环境中受到抑制,过表达 Akt 的 T 细胞能够增加细胞因子的产生并促进细胞增殖, Ep-CAM-CAR-T 同时过表达 Akt,能够有效抑制 PC3M 荷瘤小鼠肿瘤生长,延长小鼠生存期。同样, CAR-T 细胞联合肿瘤抑制性因子程序性死亡受体 1(programmed death 1, PD-1)配体或细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 配体,将有效延长 T 细胞存活,提高实体瘤治疗效果^[43]。临床采用分泌 IL-12 改装的 CARs 能够在抑制性的肿瘤微环境中保护 CAR-T 细胞,在临床治疗上取得良好的效果^[46]。

4.2 脱靶毒性与细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)

中靶和脱靶引起的细胞毒性给实体瘤治疗安全性带来风险,实体瘤表面缺乏肿瘤特异性抗原,严重限制了 CARs 在实体瘤中的应用^[47]。中靶毒性主要是由 CAR-T 细胞治疗引发的细胞 CRS。对此,寻找新的肿瘤特异性抗原是降低交叉反应的根本途径;另一方面,调控型 CAR-T 细胞将有效防止 T 细胞过度激活引发的细胞毒副作用^[6]。随着 CAR-T 细胞的改进,一种 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)样 CAR 能够靶向黑色素瘤相关 gp100/人类白细胞抗原 A2(human leucocyte antigen A2, HLA-A2)复合物,即 GPA7,其胞内结构域为 CD28 和 CD3 ζ 。有研究^[48]表明, GPA7-28 ζ -CAR T 能够介导荷瘤小

鼠黑色素瘤消退,但还未进入临床研究。这种 TCR 样 CAR 扩大了 T 细胞基因编辑的受体选择范围,为靶向肿瘤特异性抗原治疗开辟了新的路径。

4.3 肿瘤的异质性

克隆化的 T 细胞群只能针对特定类群的肿瘤细胞有杀伤效果,而实体肿瘤具有高度异质性,那些逃逸的癌细胞依旧具有增殖和转移能力。有研究^[49]显示, IL13R α 2(interleukin-13 receptor alpha 2)联合 CAR-T 细胞治疗神经胶质瘤能够介导肿瘤的消退,但却在治疗 228 d 后发现新生肿瘤,经鉴定这些新生肿块低表达 IL13R α 2,能逃脱 CAR-T 细胞杀伤。已有研究^[50]显示,通过构建串联 CAR 体系(“ tandem” CAR, TanCAR)以降低肿瘤抗原逃逸, HER2 抗体和 IL13R α 2 抗体双 CAR 串联作为外源性识别结构域, CD28 ζ 作为内源性传导结构域,单个 HER2 或 IL13R α 2 就能激活 TanCAR,并且当两种抗原同时被识别时能够产生更强的活性, TanCAR-T 细胞能有效增强 T 细胞抗肿瘤效应,降低肿瘤复发。

5 展望

将 CAR-T 细胞联合其他免疫疗法及多类型 CAR-T 细胞联合治疗将是未来的发展趋势。例如,利用放疗控制局部肿瘤,同时诱导 T 细胞的初始激活并迁移至未经放射的肿瘤位点,可产生远位消除肿瘤效应。这种效应在联合 CTLA4 抗体和放疗治疗黑色素瘤和肺癌时尤为明显,目前,临床前实验和临床实验都在评估这种联用效果。随着转化医学的发展,肿瘤免疫细胞治疗逐渐成为肿瘤治疗的主力。虽然 CAR-T 细胞在治疗血液性肿瘤已经取得较好的临床效果,但在治疗实体瘤上才刚刚起步。提高实体肿瘤免疫治疗效果、减少毒副反应仍是其取得广泛临床应用的关键问题。一方面,可以从 CAR-T 细胞本身提高抗原选择范围,增强其精准性和细胞毒性杀伤效果;另一方面,则可以通过结合其他肿瘤治疗方法,如与免疫检查点、放化疗、细胞因子等联用以降低肿瘤细胞免疫逃逸。随着越来越多的研究人员加入 CAR-T 细胞治疗研究中,有理由相信新一代 CAR-T 细胞会给实体瘤治疗带来美好前景。

[参考文献]

- [1] 姚超,钱程. CAR-T 细胞在肿瘤治疗中的机遇与挑战[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(1): 6-11. DOI: 10. 3872/ j. issn. 1007-385x. 2017. 01. 003.
- [2] GROSS G, WAKS T, ESHHAR Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989, 86

- (24):10024-10028.
- [3] ABATE-DAGA D , DAVILA M L. CAR models: next-generation CAR modifications for enhanced T-cell function [J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3:16014[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871190/>. DOI: 10.1038/mt.2016.14.
- [4] HOYOS V, SAVOLDO B, QUINTARELLI C, et al. Engineering CD19-specific T lymphocytes with interleukin-15 and a suicide gene to enhance their anti-lymphoma/leukemia effects and safety [J]. *Leukemia*, 2010, 24(6):1160-1170. DOI: 10.1038/leu.2010.75.
- [5] FEDOROV V D, THEMELI M, SADELAIN M. PD-1 and CTLA-4 based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(215):215ra172[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3006597/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3006597.
- [6] WU C Y, ROYBAL K T, PUCHNER E M, et al. Remote control of therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric receptor[J]. *Science*, 2015, 350(6258):aab4077. DOI: 10.1126/science.aab4077.
- [7] DAVILA M L , SADELAIN M. Biology and clinical application of CAR T cells for B cell malignancies[J]. *Int J Hematol*, 2016, 104(1):6-17. DOI: 10.1007/s12185-016-2039-6.
- [8] KOCHENDERFER J N, WILSON W H, JANIK J E, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19[J]. *Blood*, 2010, 116(20):4099-4102. DOI: 10.1182/blood-2010-04-281931.
- [9] 童春容. 第二代 CD19-CAR-T 细胞治疗难治复发急性 B 淋巴细胞白血病的经验及问题[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017,24(1):18-21. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2017.01.005.
- [10] TAMMANA S, HUANG X, WONG M, et al. 4-1BB and CD28 signaling plays a synergistic role in redirecting umbilical cord blood T cells against B-cell malignancies[J]. *Hum Gene Ther*, 2010, 21(1):75-86. DOI: 10.1089/hum.2009.122.
- [11] WEIZMAN E , COHEN C J. Engineering T-cell specificity genetically to generate anti-melanoma reactivity [J/OL]. *Methods Mol Biol*, 2016,20[2016-12-11]. http://link.springer.com/protocol/10.1007%2F7651_2015_297 DOI: 10.1007/7651_2015_297.
- [12] MORGAN R A, DUDLEY M E, WUNDERLICH J R, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes[J]. *Science*, 2006, 314(5796):126-129. DOI: 10.1126/science.1129003.
- [13] WU M R, ZHANG T, ALCON A, et al. DNAM-1-based chimeric antigen receptors enhance T cell effector function and exhibit in vivo efficacy against melanoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015, 64(4):409-418. DOI: 10.1007/s00262-014-1648-2.
- [14] KRISHNAMURTHY J, RABINOVICH B A, MI T, et al. Genetic engineering of T cells to target HERV-K, an ancient retrovirus on melanoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(14):3241-3251. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3197.
- [15] GARGETT T , BROWN M P. The inducible caspase-9 suicide gene system as a “safety switch” to limit on-target, off-tumor toxicities of chimeric antigen receptor T cells [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2014, 5:235[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4211380/>. DOI: 10.3389/fphar.2014.00235.
- [16] SHIINA S, OHNO M, OHKA F, et al. CAR-T cells targeting podoplanin reduce orthotopic glioblastomas in mouse brains[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(3):259-268. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0060.
- [17] SAMPSON J H, CHOI B D, SANCHEZ-PEREZ L, et al. EGFRv III mCAR-modified T-cell therapy cures mice with established intracerebral glioma and generates host immunity against tumor-antigen loss[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(4):972-984. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0709.
- [18] THOMAS S, STRAATHOF K, HIMOUDI N, et al. An optimized GD2-targeting retroviral cassette for more potent and safer cellular therapy of neuroblastoma and other cancers[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0152196[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4816271/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0152196.
- [19] 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.
- [20] PULE M A, SAVOLDO B, MYERS G D, et al. Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma[J/OL]. *Nat Med*, 2008, 14(11):1264-1270. DOI: 10.1038/nm.1882.
- [21] HECZEY A , LOUIS C U. Advances in chimeric antigen receptor immunotherapy for neuroblastoma[J]. *Discov Med*, 2013, 16(90):287-294.
- [22] HULIN-CURTIS S L, UUSI-KERTTULA H, JONES R, et al. Evaluation of CD46 re-targeted adenoviral vectors for clinical ovarian cancer intraperitoneal therapy[J]. *Cancer Gene Ther*, 2016, 23(7):229-234. DOI: 10.1038/cgt.2016.22.
- [23] SONG D G, YE Q, SANTORO S, et al. Chimeric NKG2D CAR-expressing T cell-mediated attack of human ovarian cancer is enhanced by histone deacetylase inhibition[J]. *Hum Gene Ther*, 2013, 24(3):295-305. DOI: 10.1089/hum.2012.143.
- [24] SMITH J B, LANITIS E, DANGAJ D, et al. Tumor regression and delayed onset toxicity following B7-H4 CAR-T cell therapy[J]. *Mol Ther*, 2016,24(11):1987-1999. DOI: 10.1038/mt.2016.149.
- [25] WU M R, ZHANG T, DEMARS L R, et al. B7H6-specific chimeric antigen receptors lead to tumor elimination and host antitumor immunity[J]. *Gene Ther*, 2015, 22(8):675-684. DOI: 10.1038/gt.2015.29.
- [26] KONERU M, O'CEARBHAILL R, PENDHARKAR S, et al. A phase I clinical trial of adoptive T cell therapy using IL-12 secreting MUC-16(ecto) directed chimeric antigen receptors for recurrent ovarian cancer[J]. *J Transl Med*, 2015, 13:102[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4438636/>. DOI: 10.1186/s12967-015-0460-x.
- [27] ZUCCOLOTTO G, FRACASSO G, MERLO A, et al. PSMA-specific CAR-engineered T cells eradicate disseminated prostate cancer in preclinical models [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e109427

- [2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4438636/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0109427.
- [28] SANTORO S P, KIM S, MOTZ G T, et al. T cells bearing a chimeric antigen receptor against prostate-specific membrane antigen mediate vascular disruption and result in tumor regression[J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(1):68-84. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0192.
- [29] HILLERDAL V, RAMACHANDRAN M, LEJA J, et al. Systemic treatment with CAR-engineered T cells against PSCA delays subcutaneous tumor growth and prolongs survival of mice [J/OL]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 30[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3899402/>. DOI: 10.1186/1471-2407-14-30.
- [30] DENG Z, WU Y, MA W, et al. Adoptive T-cell therapy of prostate cancer targeting the cancer stem cell antigen EpCAM[J/OL]. *BMC Immunol*, 2015, 16: 1[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4318439/>. DOI: 10.1186/s12865-014-0064-x.
- [31] JUNGHANS R P, MA Q, RATHORE R, et al. Phase I trial of anti-PSMA designer CAR-T cells in prostate cancer: possible role for interacting interleukin 2-T cell pharmacodynamics as a determinant of clinical response[J]. *Prostate*, 2016, 76(14):1257-1270. DOI: 10.1002/pros.23214.
- [32] KREBS K, BOTTINGER N, HUANG L R, et al. T cells expressing a chimeric antigen receptor that binds hepatitis B virus envelope proteins control virus replication in mice[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(2):456-465. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.04.047.
- [33] 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.
- [34] LIU H, XU Y, XIANG J, et al. Targeting alpha-fetoprotein (AFP)-MHC complex with CAR T cell therapy for liver cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2016. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1203.
- [35] KATZ S C, BURGA R A, MCCORMACK E, et al. Phase I hepatic immunotherapy for metastases study of intra-arterial chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy for CEA(+) liver metastases[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(14):3149-3159. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1421.
- [36] LUM L G, THAKUR A, AL-KADHIMI Z, et al. Targeted T-cell therapy in stage IV breast cancer: a phase I clinical trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(10):2305-2314. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2280.
- [37] SUAREZ E R, CHANG DE K, SUN J, et al. Chimeric antigen receptor T cells secreting anti-PD-L1 antibodies more effectively regress renal cell carcinoma in a humanized mouse model[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(23):34341-34355. DOI: 10.18632/oncotarget.9114.
- [38] ALRIFAI D, SARKER D, MAHER J. Prospects for adoptive immunotherapy of pancreatic cancer using chimeric antigen receptor-engineered T-cells[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2016, 38(1):50-60. DOI: 10.3109/08923973.2015.1100204.
- [39] JACKSON H J, BRENTJENS R J. Overcoming antigen escape with CAR T-cell therapy[J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(12):1238-1240. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1275.
- [40] BEAVIS P A, SLANEY C Y, KERSHAW M H, et al. Reprogramming the tumor microenvironment to enhance adoptive cellular therapy[J]. *Semin Immunol*, 2016, 28(1):64-72. DOI: 10.1016/j.smim.2015.11.003.
- [41] SAPOZNIK S, ORTENBERG R, GALORE-HASKEL G, et al. CXCR1 as a novel target for directing reactive T cells toward melanoma: implications for adoptive cell transfer immunotherapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(10):1833-1847. DOI: 10.1007/s00262-012-1245-1.
- [42] LU H. TLR agonists for cancer immunotherapy: tipping the balance between the immune stimulatory and inhibitory effects [J/OL]. *Front Immunol*, 2014, 5:83[2016-12-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3939428/>. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00083.
- [43] KUROSE K, OHUE Y, SATO E, et al. Increase in activated Treg in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Treg by ADCC using an antihuman CCR4 mAb (KM2760) [J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(1):74-83. DOI: 10.1097/JTO.0000000000000364.
- [44] NISHIO N, DIACONU I, LIU H, et al. Armed oncolytic virus enhances immune functions of chimeric antigen receptor-modified T cells in solid tumors[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(18):5195-5205. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0697.
- [45] WU Y, DENG Z, TANG Y, et al. Over-expressing Akt in T cells to resist tumor immunosuppression and increase anti-tumor activity [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15:603. DOI: 10.1186/s12885-015-1611-4.
- [46] YEKU O O, BRENTJENS R J. Armored CAR T cells: utilizing cytokines and pro-inflammatory ligands to enhance CAR T-cell anti-tumour efficacy[J]. *Biochem Soc Trans*, 2016, 44(2):412-418. DOI: 10.1042/BST20150291.
- [47] HOMBACH A A, ABKEN H. Shared target antigens on cancer cells and tissue stem cells: go or no-go for CAR T cells? [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(2):151-155. DOI: 10.1080/1744666X.2016.1221763.
- [48] ZHANG G, WANG L, CUI H, et al. Anti-melanoma activity of T cells redirected with a TCR-like chimeric antigen receptor[J]. *Sci Rep*, 2014, 4:3571. DOI: 10.1038/srep03571.
- [49] BROWN C E, ALIZADEH D, STARR R, et al. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(26):2561-2569. DOI: 10.1056/NEJMoa1610497.
- [50] HEGDE M, MUKHERJEE M, GRADA Z, et al. Tandem CAR T cells targeting HER2 and IL-13R alpha2 mitigate tumor antigen escape[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(8):3036-3052. DOI: 10.1172/JCI83416.

[收稿日期] 2016 - 12 - 08

[修回日期] 2017 - 01 - 04

[本文编辑] 王映红