

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.018

· 综述 ·

## CAR-T 细胞治疗肿瘤的脱靶效应及其预防策略

### Off-target effects in CAR-T cytotherapy for tumors and their preventive strategies

郝贺 综述;汪治宇 审阅(河北医科大学第四医院 肿瘤科,河北 石家庄 050000)

[摘要] 嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)是单链抗体的可变区(single-chain variable fragments, scFv)和 T 细胞信号分子的重组融合蛋白,它使 T 细胞可以通过非 MHC 限制性方式识别特异性抗原。最近的临床研究证明,CAR-T 细胞在治疗 B 细胞肿瘤中取得了显著效果。但在目前的临床应用中存在诸多限制,尤其是当肿瘤抗原在正常组织中表达时会造成脱靶效应。本文就靶抗原的选择、脱靶效应及相应的预防策略作一综述,期望这些策略的实施,将会提高 CAR-T 细胞治疗的安全性及有效性,使更多肿瘤患者从中获益。

[关键词] 嵌合抗原受体;肿瘤免疫治疗;肿瘤抗原;脱靶效应

[中图分类号] R730.54; R392.32

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)03-0317-06

嵌合抗原受体修饰的 T 细胞(CAR-T 细胞)是近二十年来肿瘤免疫治疗领域兴起的一项新的生物治疗技术。CAR 技术的基本原理是通过基因工程技术将识别某抗原分子的抗体可变区基因序列与淋巴细胞免疫受体的胞内区序列拼接后,通过逆转录病毒或慢病毒载体、转座子或转座酶系统直接通过 mRNA 转导到淋巴细胞内,表达融合蛋白于细胞表面,使淋巴细胞能通过非 MHC 限制性方式识别特定抗原,增强其识别和杀伤肿瘤的能力。

CAR 的基本骨架包括胞外区[主要是单克隆抗体的单链可变区序列(scFv)]、穿膜区和胞内区三部分,根据胞内区结构不同,目前 CAR 结构经历了 4 代的改进(图 1)<sup>[1]</sup>。第 1 代 CAR 胞内信号域只嵌合 TCR/CD3 的  $\zeta$  链或免疫球蛋白 Fc 受体的  $\gamma$  链,不表达共刺激分子,能够识别靶抗原并激活 T 细胞,但不转导增殖信号和诱导细胞因子产生,体内存活时间较短,无法持续抗肿瘤;第 2 代在第 1 代胞内信号域添加 1 个协同刺激因子(如 CD27、CD28、OX40、ICOS、4-1BB 等),能同时活化共刺激分子及胞内信号域,提供双重活化信号,使 T 细胞持续增殖并释放细胞因子,提高 T 细胞的抗肿瘤能力;第 3 代 CAR 胞内区域整合了 2 个以上的协同刺激因子<sup>[2-3]</sup>,T 细胞活化、增殖、分泌细胞因子及细胞毒素作用比第 2 代 CAR 更强,但靶向识别特异性降低,低亲和分子亦可促进 T 细胞活化,可产生细胞因子风暴<sup>[4-5]</sup>;第 4 代 CAR 是在第 2 代 CAR 上,增加编码 CAR 和/或其反应性启动子的载体,在转基因产生的细胞因子作用下 CAR 产生有效信号,并能招募免疫系统其他成员,放大抗肿瘤免疫效应<sup>[6-7]</sup>。近年

来,CAR-T 细胞治疗肿瘤疗效显著,尤其在治疗 B 细胞恶性肿瘤取得了良好效果<sup>[8-9]</sup>。但任何药物均存在一定的毒副作用,CAR-T 细胞也不例外,包括脱靶效应、细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)和神经系统损伤等。理想的靶抗原应是正常组织或器官中不表达的肿瘤特异性抗原,但现实中这类抗原非常少,如果设计的靶抗原不是肿瘤特有,将会对正常组织造成杀伤,这就是脱靶效应。本文对目前临床研究中使用的靶抗原组织的分布、潜在毒性以及如何避免脱靶效应作一综述。

### 1 脱靶效应

脱靶效应是指由于 CAR 针对的靶抗原多为肿瘤相关抗原,并非肿瘤细胞所特有,且在正常组织中存在不同程度的表达,对靶抗原亲和力和杀伤能力强的 CAR-T 细胞在清除肿瘤的同时也会攻击正常组织,造成组织器官的损伤。

Morgan 等<sup>[10]</sup>报道了 1 例结直肠癌合并肝和肺转移患者接受第 1 代人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)的 CAR-T 细胞治疗后死亡,其主要原因是 HER2 在肺血管等一些正常组织中低表达,CAR-T 细胞在杀伤肿瘤的同时,对肺组织也产生伤害作用,引起呼吸衰竭死

[作者简介] 郝贺(1989-),男,硕士生,主要从事肿瘤免疫学的基础与临床研究, E-mail: haohe1989@sina.com

[通信作者] 汪治宇(Wang Zhiyu, corresponding author),博士,硕士生导师,主任医师,主要从事肿瘤免疫治疗的基础与临床研究, E-mail: drwangzhiyu@hotmail.com

亡。Lamers 等<sup>[11]</sup>在针对肾细胞癌的第 1 代碳酸酐酶 IX( carbonic anhydrase IX, CAIX )的 CAR-T 研究中发现,因 CAIX 在正常胰胆管上皮、胃粘膜、小肠隐窝细胞上低表达,脱靶效应可引起自身免疫性胆管炎和严重的肝损伤。Beatty 等<sup>[12]</sup>在治疗恶性胸膜间皮瘤、转移性胰腺癌的临床试验中发现,间皮素可在正常腹膜、胸膜及心包间皮细胞上表达,脱靶效应可造成患者心脏骤停、呼吸衰竭、肠梗阻、腹痛等毒副反应。CD19 在大多数 B 细胞恶性肿瘤细胞表达,但在正常组织的成熟 B 细胞、前体 B 细胞和浆

细胞中亦有表达,B 细胞发育不全是抗 CD19 的 CAR-T 细胞脱靶效应的结果,也可作为 CAR-T 细胞药效持久性的指标<sup>[5,13-14]</sup>,幸运的是,B 细胞发育不全可以通过输注丙种球蛋白行替代治疗。其他如针对前列腺膜抗原( prostate membrane antigen, PS-MA )、神经节苷脂 2( ganglioside 2, GD2 )、粘蛋白抗原 1( mucin antigen 1, MUC1 )、癌胚抗原( carcinoembryonic, CEA )等靶抗原设计的 CAR-T 细胞临床试验正在开展,其潜在的脱靶效应值得密切关注。

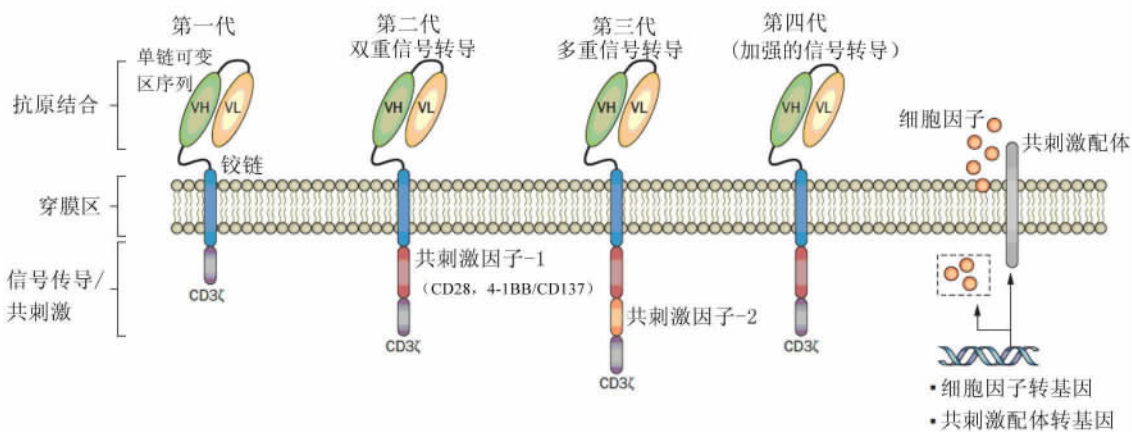


图1 第1~4代 CAR 的结构示意图<sup>[11]</sup>

## 2 预防策略

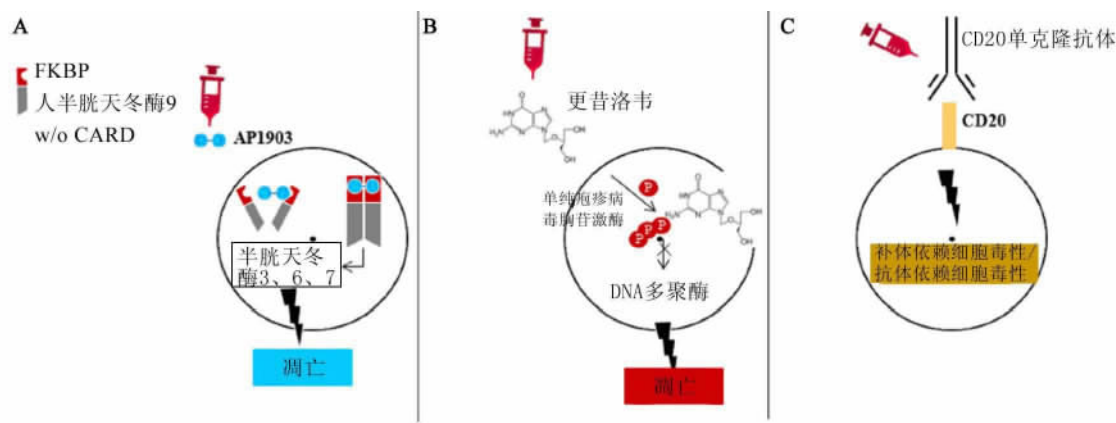
脱靶效应的产生损伤了表达靶抗原的正常组织结构,限制了 CAR-T 细胞的临床应用。最好的解决策略是找到肿瘤特异性抗原,设计激活的 T 细胞仅杀伤肿瘤组织的 CAR,可完全避免 CAR-T 细胞对正常组织的伤害。但是这类抗原极其罕见,尤其是在实体肿瘤中。另外一种策略是调控抗原识别信号通路,最大限度减少对正常组织的伤害。目前常用的方法包括:导入自杀基因,构建抑制性 CAR( inhibitory CAR, iCAR )、双靶抗原 CARs、人源化 scFv 段等。此外,改善 CAR-T 细胞的输注途径,也可减少脱靶效应。

### 2.1 导入自杀基因

导入自杀基因是指在脱靶效应发生时保证消除 CAR-T 细胞的可控性。设计原理是在 CAR 内导入一个共表达的自杀基因,当不良反应发生时,在无毒性的前体药物刺激下,激活自杀基因,诱导 CAR-T 细胞凋亡,终止治疗<sup>[15]</sup>。目前,有 3 种基因已用于临

床试验研究,不同自杀基因作用机制如图 2 所示<sup>[16]</sup>。

第 1 种是诱导型半胱天冬酶 9( *iC9* )基因(图 2A),由缩短的人类半胱天冬酶 9 和 FKBP 结构域组成,是启动细胞凋亡的重要分子。它可以与前体药物小分子二聚体 AP1903 结合启动凋亡级联反应,引起细胞死亡<sup>[17]</sup>。*iC9* 相对于 HSV-tk 具有两个重要优势:不依赖于细胞分裂活动;因其组成蛋白质是人源的,故具有更少的免疫原性。第 2 种是编码单纯疱疹病毒胸苷激酶( herpes simplex virus-thymidine kinase, HSV-TK )(图 2B),它可以使前体药物鸟嘌呤核苷类似物更昔洛韦( ganciclovir )磷酸化,其三磷酸产物作用于 DNA 聚合酶,引起链终止反应使细胞凋亡,该方法在同种异体骨髓移植产生的移植物抗宿主病中应用,取得了一定成效。第 3 种是通过逆转录病毒将截短的 *EGFR* 基因或 CD20 转染到 CAR-T 细胞膜上(图 2C),作为消除 CAR-T 的位点,利用临床已获批的相应靶向药物,如西妥昔单抗、利妥昔单抗,识别这些位点并诱导 T 细胞凋亡<sup>[18]</sup>。



A: 前体药物小分子二聚体 AP1903 与人类半胱天冬酶 9 和 FKBP 结构域构成的诱导型半胱天冬酶 9 (iC9) 基因结合, 启动细胞凋亡; B: 单纯疱疹病毒胸苷激酶 (HSVTK) 使前体药物鸟嘌呤核苷类似物更昔洛韦 (ganciclovir) 磷酸化, 其三磷酸产物作用于 DNA 聚合酶, 引起链终止反应使细胞凋亡; C: 将 CD20 转染到 CAR-T 细胞膜上, 作为消除 CAR-T 的位点, 利用利妥昔单抗, 识别其位点, 通过补体依赖细胞毒性 (CDC) 或抗体依赖细胞毒性 (ADCC) 诱导 T 细胞凋亡

图 2 三种不同自杀基因技术作用机制<sup>[16]</sup>

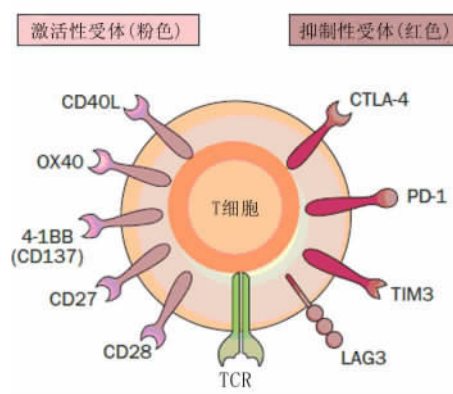
## 2.2 构建抑制性 CAR

T 细胞的活化需要双信号途径, 第一信号途径为抗原递呈细胞上的 MHC 分子-抗原肽复合体与 T 细胞上的 TCR 结合, 第二信号为抗原递呈细胞上的共刺激分子 B7 与 T 细胞上的 CD28 分子结合。在这两种信号共同作用下, T 细胞活化、增殖, 具备杀伤作用。在第二信号通路中, 除存在激活信号分子外, 还存在一些抑制性分子受体 (图 3A), 此受体在负性调控 T 细胞应答方面发挥重要作用<sup>[19-20]</sup>。有研究<sup>[21]</sup>表明, 包含细胞毒 T 淋巴细胞抗原 4 (CTLA-4) 或程序性死亡受体 1 (PD-1) 抑制性受体的体外共培养试验中, T 细胞的活化、增殖、细胞因子的释放以及细胞毒素作用受到很大障碍。

有研究者<sup>[22]</sup>设想, 在原有 CAR 的基础上, 再设计一个抑制性 CAR (iCAR) (图 3B)<sup>[23]</sup>, 将胞内域的抑制性分子受体通过基因工程重组到 iCAR 骨架上, 当 iCAR 识别相应抗原后, 活化胞内抑制性信号域, 负性调控 T 细胞活化。该 iCAR 抗原仅在正常组织表达, 在肿瘤组织不表达, 激活的 T 细胞杀伤正常组织时, iCAR 可降低正常组织 T 细胞的活化、增殖、细胞因子的释放以及细胞毒素作用, 避免或减少脱靶效应。Fedorov 等<sup>[23]</sup>通过构建胞内域抑制性分子 PD-1 或 CTLA-4 受体的 iCAR, 验证了此方法可控制 CAR-T 活化及应答。

## 2.3 构建双靶抗原 CARs

第 2、3 代 CAR T 细胞活化是通过构建嵌合一种



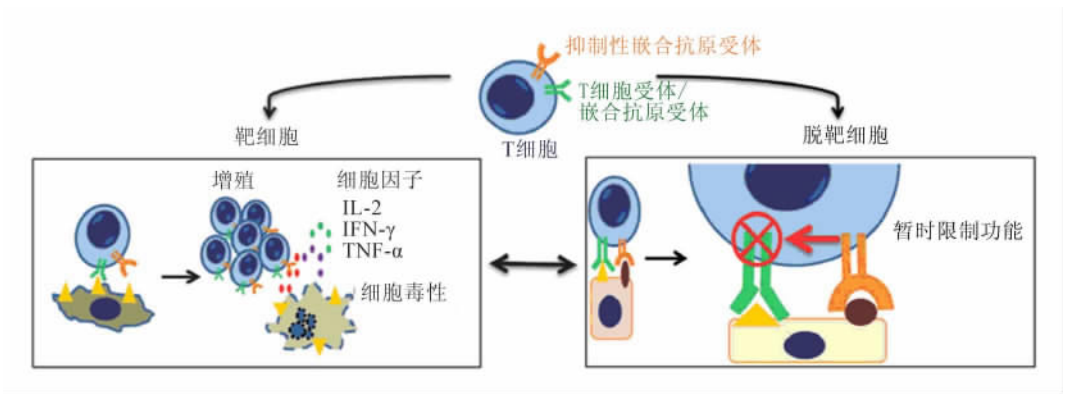
T 细胞表面的激活性受体 (粉色标记) 及抑制性受体 (红色标记)

图 3A T 细胞表面的激活性及抑制性受体<sup>[11]</sup>

抗原的 CAR 激活胞内域的第 1、第 2 信号实现的。如果将两个信号通路分离开, 独立发挥作用, T 细胞活化需要携带 2 种不同肿瘤抗原的 CARs 与 2 个信号都结合才可发挥作用。这种配对抗原的设计限制了 T 细胞活化, 激活单个信号通路不能完全活化 T 细胞, 发挥杀伤作用, 这为 CAR-T 细胞的临床应用提供了一个重要安全机制 (图 4)<sup>[22]</sup>, 该策略已在体外实验和小鼠模型中得到证实<sup>[24]</sup>。Wilkie 等<sup>[25]</sup>依据这一原则的 HER2/CD3- $\zeta$  和 MUC1/CD28 双抗原 CARs 研究, 证明了此设计可有效降低对正常组织的杀伤。Lanitis 等<sup>[26]</sup>报道间皮素 scFv-CD3- $\zeta$  和叶

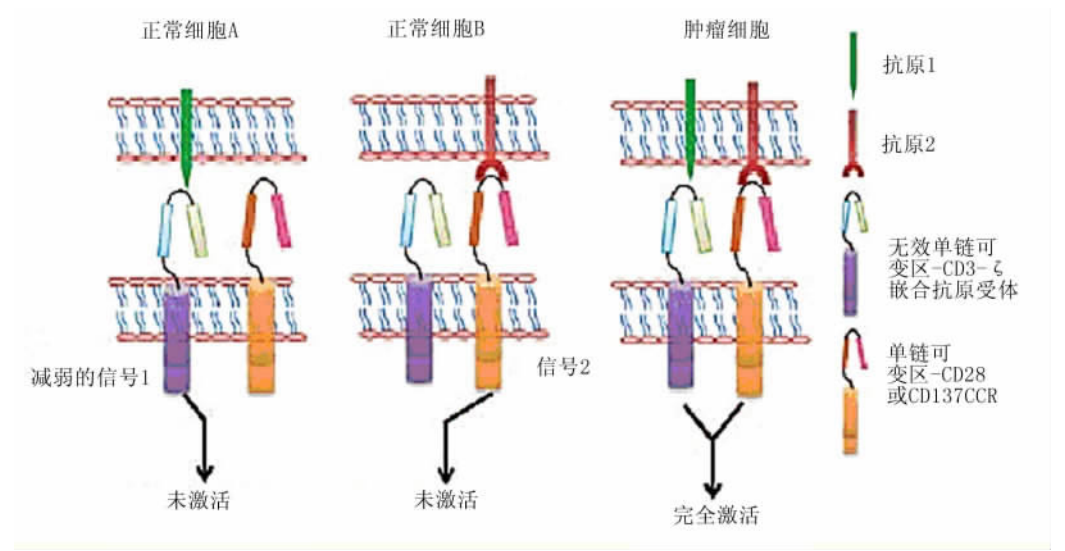
酸受体  $\alpha$ (FR- $\alpha$ )scFv-CD28 CARs 的试验研究显示,针对仅表达一种肿瘤相关抗原的细胞,CAR-T 细胞释放细胞因子较少,与表达两种抗原的靶细胞结合,

细胞因子释放增多,且具有较好的抗肿瘤活性及持久性,其效果与第二代 CAR-T 相当。



在原有 CAR 的基础上,设计一个抑制性嵌合抗原受体 (iCAR),当遇到肿瘤细胞时,iCAR 不发挥作用, T 细胞激活,增殖并释放细胞因子等物质,杀伤肿瘤细胞;当遇到正常组织细胞时,iCAR 进行识别,活化胞内抑制性信号域,负性调控 T 细胞活化,避免或减少脱靶效应

图 3B 抑制性 CAR 作用机制模型<sup>[23]</sup>



T 细胞活化需要携带不同肿瘤抗原的 2 种 CARs 与 2 个信号均结合才可发挥作用,激活单个信号通路不能完全活化 T 细胞,这种配对抗原的设计限制了 T 细胞活化,提供了一个重要安全机制

图 4 双靶抗原作用机制模型<sup>[22]</sup>

### 2.4 改变 T 细胞输注途径

临床试验和小鼠模型实验研究发现<sup>[27-29]</sup>,输注的 CAR-T 细胞在输注 30 min 后逐渐到达肺部,随后到肝脏和脾脏。为了限制进入肿瘤病灶的 CAR-T 分布到非肿瘤组织,造成脱靶效应,一些实验室研究瘤内注射 CAR-T 细胞,并且取得了很好效果。胰腺癌原位异种移植动物模型实验研究发现胰腺内注入

嵌合 CEA 的 CAR-T 细胞,T 细胞在肿瘤部位积聚并持久存在,且没有明显毒副作用。研究表皮生长因子受体 III 型突变体 (EGFR III) 表达的免疫缺陷脑肿瘤小鼠的实验结果<sup>[30]</sup>表明,颅内注射 EGFR III 的 CAR-T 细胞,小鼠生存时间呈现一定的剂量依赖性,组织学分析显示相邻正常脑组织未造成损害。目前有学者<sup>[31]</sup>提出瘤内注射 HER2 的 CAR-T 细胞

治疗局部晚期或复发头颈部癌症效果的 I 期临床试验的设想,详细说明研究流程、瘤内注射剂量及间隔时间等问题,为开展相关的临床试验提供思路。

## 2.5 构建 mRNA 编码的 CAR

将 mRNA 编码的 CAR 转染 T 细胞,使 CAR 在 T 细胞呈暂时性表达,可有效降低脱靶效应。Zhao 等<sup>[32]</sup>报道,运用电穿孔将抗间皮素 mRNA 编码的 CAR 转染 T 细胞,给间皮瘤小鼠模型多次注射 CAR-T 细胞,可有效降低肿瘤负荷,且可较好控制脱靶效应,使小鼠生存获益。

## 2.6 构建人源化的 CAR

目前大部分 CAR-T 细胞临床试验中,CAR 的 scFv 段多为鼠源性,具有高亲和力和免疫原性。高亲和力的 CAR-T 细胞区分表达较高水平靶抗原的肿瘤细胞和表达低水平的正常细胞的能力较差,而且人体会把免疫原性较强的 CAR 视为外来异物进行排斥,发生脱靶效应的可能性增大。可利用人源化单链抗体可变区(scFv)克服这一缺陷。有报道<sup>[33]</sup>显示,有合适亲和力及低免疫原性的人源化 scFv 的 CAR-T 细胞在卵巢癌小鼠模型中,能产生较强的抗肿瘤效应,并明显降低发生脱靶效应的概率。

## 3 展 望

CAR-T 细胞技术的发展使肿瘤免疫治疗向前迈了一大步,使 T 细胞突破了 MHC 的限制性,其识别和杀伤肿瘤细胞的能力显著增强,国内外已相继开展了 I、II 期临床试验。然而,CAR-T 细胞发挥抗肿瘤作用的同时,也产生了严重的毒副作用,尤其是脱靶效应,所以提高 CAR-T 细胞的安全性至关重要。目前,正在积极地应用现代生物科学技术,优化 CAR 结构,避免脱靶效应的产生,提高 CAR-T 细胞治疗的安全性。相信在不久的将来,随着 CAR-T 细胞技术的不断优化,脱靶效应及其他毒副作用的降低,必将为肿瘤患者带来福音。

## [ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] BATLEVI C L, MATSUKI E, BRENTJENS R J, et al. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies[ J ]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13( 1 ):25-40. DOI: 10.1093/jnci/djv439.

[ 2 ] ENBLAD G, KARLSSON H, LOSKOG A S, et al. CAR T-cell therapy: The role of physical barriers and immunosuppression in lymphoma[ J ]. *Hum Gene Ther*, 2015, 26( 8 ):498-505. DOI: 10.1089/hum.2015.054.

[ 3 ] CHEN F, FAN C, GU X, et al. Construction of anti-CD20 single-chain antibody-CD28-CD137-TCRzeta recombinant genetic modified T cells and its treatment effect on B cell lymphoma[ J/OL ]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 2110-2115 [ 2016-06-01 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4537073>. DOI: 10.12659/MSM.893791.

[ 4 ] SONG D G, YE Q, POUSSIN M, et al. CD27 costimulation augments the survival and antitumor activity of redirected human T cells in vivo[ J ]. *Blood*, 2012, 119( 3 ):696-706. DOI: 10.1182/blood-2011-03-344275.

[ 5 ] KOCHENDERFER J N, DUDLEY M E, FELDMEN S A, et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells[ J ]. *Blood*, 2012, 119( 12 ): 2709-2720. DOI: 10.1182/blood-2011-10-384388.

[ 6 ] KOBOLD S, STEFFEN J, CHALLOUPKA M, et al. Selective bispecific T cell recruiting antibody and antitumor activity of adoptive T cell transfer[ J ]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107( 1 ):364. DOI: 10.1093/jnci/dju364.

[ 7 ] PEGRAM H J, LEE J C, HAYMAN E G, et al. Tumor-targeted T cells modified to secrete IL-12 eradicate systemic tumors without need for prior conditioning[ J ]. *Blood*, 2012, 119( 18 ):4133-4141. DOI: 10.1182/blood-2011-12-400044.

[ 8 ] XU X J, ZHAO H Z, TANG Y M. Efficacy and safety of adoptive immunotherapy using anti-CD19 chimeric antigen receptor transduced T-cells: a systematic review of phase I clinical trials[ J ]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54( 2 ): 255-260. DOI: 10.3109/10428194.2012.715350.

[ 9 ] BRENTJENS R J, RIVIERE I, PARK J H, et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemia[ J ]. *Blood*, 2011, 118( 18 ):4817-4828. DOI: 10.1182/blood-2011-04-348540.

[ 10 ] 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.

[ 11 ] LAMERS C H, LANGEVELD S C, GROOT-VAN R C, et al. Gene-modified T cells for adoptive immunotherapy of renal cell cancer maintain transgene-specific immune functions in vivo[ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56( 12 ):1875-1883. DOI: 10.1007/s00262-007-0330-3.

[ 12 ] BEATTY G L, HAAS A R, MAUS M V, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce antitumor activity in solid malignancies[ J ]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2( 2 ):112-120. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-13-0170.

[ 13 ] BRENTJENS R J, RIVIERE I, PARK J H, et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemia[ J ]. *Blood*, 2011, 118( 18 ):4817-4828. DOI: 10.1182/blood-2011-04-348540.

[ 14 ] KALOS M, LEVINE B L, PORTER D L, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia[ J/OL ]. *Sci Transl Med*, 2011, 3( 95 ):73r-95r [ 2016-06-01 ]. <http://stm.sciencemag.org/content/3/95/95ra73.long>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002842.

- [ 15 ] RUSSO V, BONDANZA A, CICERI F, et al. A dual role for genetically modified lymphocytes in cancer immunotherapy [ J ]. Trends Mol Med, 2012, 18( 4 ): 193-200. DOI: 10.1016/j.molmed.2011.12.003.
- [ 16 ] JONES B S, LAMB L S, GOLDMAN F, et al. Improving the safety of cell therapy products by suicide gene transfer [ J/OL ]. Front Pharmacol, 2014, 5: 254 [ 2016-06-01 ]. https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00254. DOI: 10.3389/fphar.2014.00254.
- [ 17 ] STRAATHOF K C, PULE M A, YOTNDA P, et al. An inducible caspase 9 safety switch for T-cell therapy [ J ]. Blood, 2005, 105( 11 ):4247-4254. DOI: 10.1182/blood-2004-11-4564.
- [ 18 ] WANG X, CHANG W C, WONG C W, et al. A transgene-encoded cell surface polypeptide for selection, in vivo tracking, and ablation of engineered cells [ J ]. Blood, 2011, 118( 5 ):1255-1263. DOI: 10.1182/blood-2011-02-337360.
- [ 19 ] SHARMA P, WAGNER K, WOLCHOK J D, et al. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps [ J ]. Nat Rev Cancer, 2011, 11( 11 ):805-812. DOI: 10.1038/nrc3153.
- [ 20 ] PARDOLL D M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy [ J ]. Nat Rev Cancer, 2012, 12( 4 ):252-264. DOI: 10.1038/nrc3239.
- [ 21 ] PARRY R V, CHEMNITZ J M, FRAUWIRTH K A, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms [ J ]. Mol Cell Biol, 2005, 25( 21 ):9543-9553. DOI: 10.1128/MCB.25.21.9543-9553.2005.
- [ 22 ] DAI H, WANG Y, LU X, et al. Chimeric antigen receptors modified T-cells for cancer therapy [ J ]. J Natl Cancer Inst, 2016, 108( 7 ):1-14. DOI:10.1093/jnci/djv439.
- [ 23 ] 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 ):172r-215r [ 2016-06-01 ]. http://stm.sciencemag.org/content/5/215/215ra172. long. DOI: 10.1126/scitranslmed.3006597.
- [ 24 ] KLOSS C C, CONDOMINES M, CARTELLIERI M, et al. Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells [ J ]. Nat Biotechnol, 2013, 31( 1 ):71-75. DOI: 10.1038/nbt.2459.
- [ 25 ] WILKIE S, VAN SCHALKWYK M C, HOBBS S, et al. Dual targeting of ErbB2 and MUC1 in breast cancer using chimeric antigen receptors engineered to provide complementary signaling [ J ]. J Clin Immunol, 2012, 32( 5 ):1059-1070. DOI: 10.1007/s10875-012-9689-9.
- [ 26 ] LANITIS E, POUSSIN M, KLATTENHOFF A W, et al. Chimeric antigen receptor T Cells with dissociated signaling domains exhibit focused antitumor activity with reduced potential for toxicity in vivo [ J ]. Cancer Immunol Res, 2013, 1( 1 ):43-53. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0008.
- [ 27 ] PARENTE-PEREIRA A C, BURNET J, ELLISON D, et al. Trafficking of CAR-engineered human T cells following regional or systemic adoptive transfer in SCID beige mice [ J ]. J Clin Immunol, 2011, 31( 4 ):710-718. DOI: 10.1007/s10875-011-9532-8.
- [ 28 ] KERSHAW M H, WESTWOOD J A, PARKER L L, et al. A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer [ J ]. Clin Cancer Res, 2006, 12( 20 Pt 1 ):6106-6115. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1183.
- [ 29 ] RITCHIE D S, NEESON P J, KHOT A, et al. Persistence and efficacy of second generation CAR T cell against the LeY antigen in acute myeloid leukemia [ J ]. Mol Ther, 2013, 21( 11 ):2122-2129. DOI: 10.1038/mt.2013.154.
- [ 30 ] CHOI B D, SURYADEVARA C M, GEDEON P C, et al. Intracerebral delivery of a third generation EGFRvIII-specific chimeric antigen receptor is efficacious against human glioma [ J ]. J Clin Neuro, 2014, 21( 1 ):189-190. DOI: 10.1016/j.jocn.2013.03.012.
- [ 31 ] VAN SCHALKWYK M C, PAPA S E, JEANNON J P, et al. Design of a phase I clinical trial to evaluate intratumoral delivery of ErbB-targeted chimeric antigen receptor T-cells in locally advanced or recurrent head and neck cancer [ J ]. Hum Gene Ther Clin Dev, 2013, 24( 3 ):134-142. DOI: 10.1089/humc.2013.144.
- [ 32 ] ZHAO Y, MOON E, CARPENITO C, et al. Multiple injections of electroporated autologous T cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor [ J ]. Cancer Res, 2010, 70( 22 ):9053-9061. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2880.
- [ 33 ] SONG D G, YE Q, POUSSIN M, et al. A fully human chimeric antigen receptor with potent activity against cancer cells but reduced risk for off-tumor toxicity [ J ]. Oncotarget, 2015, 6( 25 ):21533-21546. DOI: 10.18632/oncotarget.4071.

[ 收稿日期 ] 2016-09-19

[ 修回日期 ] 2017-01-29

[ 本文编辑 ] 宋关鸿

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中统计学符号规范化书写的要求

本刊严格遵守国家标准 GB 3358-93《统计学术语》的有关规定。为此,请作者书写统计学符号时注意以下要求:(1)样本的算术平均数用英文小写  $\bar{x}$ ,不用大写  $X$ ,也不用 Mean 或  $M$ ;(2)标准差用英文小写  $s$ ,不用 SD;(3)标准误用英文小写  $s_x$ ,不用 SE;(4)  $t$  检验用英文小写  $t$ ;(5)  $F$  检验用英文大写  $F$ ;(6)卡方检验用希腊小写  $\chi^2$ ;(7)相关系数用英文小写  $r$ ;(8)自由度用希腊小写  $\nu$ ;(9)样本数用英文小写  $n$ ;(10)概率用英文大写  $P$ ;(11)以上符号  $\bar{x}$ 、 $s$ 、 $s_x$ 、 $t$ 、 $F$ 、 $\chi^2$ 、 $r$ 、 $\nu$ 、 $n$ 、 $P$  均为斜体。请作者注意遵照执行。

(本刊编辑部)