

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.001

· 专家论坛 ·

改进 CAR-T 细胞有效性和安全性的设计策略

张昂,张斌,陈虎(解放军第307医院造血干细胞移植科 全军造血干细胞研究所,北京100071)

[摘要] 嵌合抗原受体 T (chimeric antigen receptor T cells, CAR-T) 细胞已从实验室走向了临床试验,在治疗 B 细胞恶性肿瘤中取得了显著疗效,但在探索 CAR-T 细胞治疗恶性肿瘤的临床研究中,仍面临不少困难与挑战:难以找到肿瘤特异性的靶点,以克服其脱靶效应 (on-target off tumor effect);在治疗实体瘤中 CAR-T 细胞很难达到肿瘤部位,以改善免疫抑制微环境发挥作用;CAR-T 细胞在清除肿瘤细胞的同时也会杀伤表达相同靶点的正常细胞;针对除 B 细胞肿瘤之外的血液肿瘤以及实体瘤而言, CAR-T 细胞的有效性还有待提高。本文重点介绍如何通过 CAR-T 细胞结构的优化使得 CAR-T 细胞能够精准地识别肿瘤细胞,克服肿瘤的免疫抑制微环境来提高 CAR-T 细胞治疗恶性肿瘤的有效性;同时使得 CAR-T 细胞可以被更好地控制,使得 CAR-T 细胞的安全性更高。

[关键词] CAR-T 细胞;设计策略;结构改造;有效性;安全性

[中图分类号] R730.51; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)05-0461-06

The design strategies for improving the efficacy and safety of CAR-T cells

ZHANG Ang, ZHANG Bin, CHEN Hu (Institute of Hematopoietic Stem Cell Transplantation of PLA, Department of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, the 307th Hospital of PLA, Beijing 100071, China)

[Abstract] The chimeric antigen receptor T cells (CAR-T cells) have entered to clinical trials from laboratories, which have achieved a remarkable effect in treatment of the B cell malignancy. But a lot of difficulties and challenges were still faced in the clinical researches on exploring treatment of the CAR-T cells for malignant tumors. It is difficult to find specific targets of the tumors and to overcome on-target off tumor effect. In the treatment of solid tumors, the CAR-T cells



张斌 博士、教授,现任解放军307医院生物治疗中心主任、全军造血干细胞研究所副所长、造血干细胞移植科副主任、造血干细胞治疗及转化研究北京市重点实验室副主任、中国研究型医院学会生物治疗专业委员会秘书长。长期从事肿瘤生物治疗和干细胞转化研究,包括基因修饰 DC 疫苗、CAR-T 和 NK 细胞抗肿瘤、病毒特异性 CTL 和间充质干细胞转化研究。负责科技部 863 课题、国家自然科学基金等省部级课题和军队重点课题 7 项,主编专著 1 部,在 *PNAS* 等杂志发表研究论文 60 余篇,授权国家发明专利 3 项,获国家科技进步一等奖 1 项。



陈虎 主任医师、教授、博士生导师,现任解放军307医院造血干细胞移植科主任、全军造血干细胞研究所所长、军事医学科学院细胞与基因治疗中心主任、中国医师协会血液科医师分会副会长、中国人民解放军血液学专业委员会副主任委员、*J Cell Immunother* 主编。长期从事造血干细胞移植和细胞免疫治疗的基础与临床研究,被总后勤部命名为“军中名医”,获 2016 年何梁何利基金奖、国家科技进步一等奖 1 项、军队科技进步一等奖 1 项和二等奖 4 项,承担国家 973、863 课题及省部级科研课题 10 余项,在 *Blood*、*Leukemia* 等杂志发表论文 200 余篇,主编学术专著 7 部。

[基金项目] 首都临床特色应用研究与成果推广项目(No. Z161100000516184)。Project supported by the Application Research and Achievement Promotion of Clinical Characteristics in the Capital City(No. Z161100000516184)

[作者简介] 张昂(1990-),男,博士生,主要从事肿瘤免疫细胞治疗的相关研究,E-mail:zhangang307tumor@163.com

[通信作者] 张斌(ZHANG Bin, corresponding author),主要从事肿瘤生物治疗和干细胞转化研究,E-mail:zb307ctc@163.com;陈虎(CHEN Hu, co-corresponding author),主要从事造血干细胞移植和细胞免疫治疗的基础与临床研究,E-mail:chenhu217@aliyun.com

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170509.1027.006.html>

hard to reach the tumor positions and to improve their immunosuppressive microenvironment. When the CAR-T cells eliminate tumor cells, at the same time they also kill normal cells with the same target points. Efficacy of the CAR-T cells therapy for hematologic tumors and solid tumors except B cell tumors still needs to be improved. This paper focuses on that how the CAR-T cells could accurately identify tumor cells via optimization of the CAR-T cell structures and that effectiveness of the CAR-T cell therapy for malignant tumors could be enhanced through overcoming immunosuppressive microenvironment of tumors. At the same time, the CAR-T cells could be better controlled and safety of the CAR-T cells higher.

[**Key words**] CAR-T cell; design strategy; structural modification; effectiveness; safety

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(5): 461-466. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.001]

嵌合抗原受体 T (chimeric antigen receptor T cells, CAR-T) 细胞的概念最早于 1989 年提出, CAR-T 细胞结构主要包括三部分, 即: 胞外区域、穿膜区域和胞内区域。根据胞内共刺激分子的不同, 可以将 CAR-T 细胞分类为一代 CAR-T 细胞(不包括共刺激分子)、二代 CAR-T 细胞(包括一个共刺激分子)和三代 CAR-T 细胞(包括两个共刺激分子)^[1]。CAR-T 细胞在 B 细胞恶性肿瘤上取得良好的临床治疗效果, 特别是复发难治的急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL)^[2]。目前 CAR-T 细胞所针对的靶点在多数正常组织也有表达, 如何找到特异性的靶点以及通过结构的优化, 提高对肿瘤的杀伤效率, 降低 CAR-T 细胞对正常组织的损害是 CAR-T 细胞面临的一大挑战^[3]。CAR-T 细胞发挥免疫杀伤作用, 依赖 CAR-T 细胞和肿瘤细胞相互接触, 并需克服肿瘤局部免疫抑制微环境^[4]。由于实体瘤往往伴随有成纤维细胞包裹瘤体, 在肿瘤微环境中存在大量的免疫抑制细胞、因子和调控分子, 如何使 CAR-T 细胞迁移到肿瘤部位, 克服肿瘤免疫抑制微环境, 发挥 CAR-T 细胞杀伤作用则是将 CAR-T 细胞治疗技术全面推向临床应用的另一大挑战^[5]。进入患者体内的 CAR-T 细胞与肿瘤细胞接触, 会在短时间内大量扩增, 导致免疫细胞的活化、扩增和细胞因子的大量释放很可能导致致命性的细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS)——发热、昏迷、血压降低, 甚至多器官衰竭综合征。虽然可以使用糖皮质激素控制住 CRS 的副作用, 但是糖皮质激素的使用也会影响 CAR-T 细胞的增殖, 从而影响疗效^[6]。CAR-T 细胞的副作用还需要通过优化 CAR-T 细胞的结构设计来从根本上消除。本文主要围绕如何通过 CAR-T 细胞的结构设计从而提高其有效性和安全性这两部分进行分析与讨论。

1 增强 CAR-T 细胞有效性的设计

1.1 反转免疫抑制信号的设计

针对前列腺癌细胞高表达免疫抑制分子 PD-L1 的特点, 反转抑制 T 细胞活性的抑制信号通路 (PD1, PD-L1) 为活化信号通路的设计——具体是在抗前列腺抗原 PSAC 的 CAR-T 基础上, 再对 CAR-T 细胞转染另外一段基因序列, 使之胞外区和穿膜区是 PD1 分子, 胞内区是活化 T 细胞的 CD28。高表达 PD-L1 的肿瘤细胞会对 CAR-T 细胞产生免疫抑制作用, 但是反转免疫抑制信号的 CAR-T 细胞, 将会克服 PD1 和 PD-L1 接触后的免疫抑制作用, 使免疫抑制信号变成活化信号, 增强了 CAR-T 细胞对肿瘤的杀伤作用, 同时还促进 CAR-T 细胞 Th1 类细胞因子 (IL-2、IFN- γ 、IL-12 等) 的分泌, 在一定程度上改善了肿瘤局部免疫抑制的微环境^[7]。这样的结构也可以针对其他的免疫抑制信号 (CTLA-4 等) 进行设计, 详见图 1A。

1.2 可分泌 PD-L1 单抗的 CAR-T 细胞

在二代 CAR-T 的结构基础上再加上一段能分泌 PD-L1 单抗的基因序列, 使 CAR-T 细胞在与肿瘤细胞接触过程中不仅能杀灭肿瘤细胞, 并且局部分泌的 PD-L1 单抗与肿瘤细胞表面的 PD-L1 结合, 提高 CAR-T 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性。有研究者^[8]针对羧基脱水酶 IX (carboxy anhydrase-IX, CA IX) 这个靶点设计出能分泌 PD-L1 单抗的 CAR-T 细胞, PD-L1 单抗和肿瘤细胞的结合不仅在一定程度上解除了免疫抑制——下调 CAR-T 细胞免疫抑制因子的表达 (PD-1、TIM3、LAG3), 同时还上调了 NK 细胞对肿瘤细胞的抗体依赖性的细胞介导的细胞毒作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 作用, 增强 CAR-T 细胞杀伤肾癌细胞的效率。

美国加州大学旧金山分校的研究人员构建出能够在体内执行一系列可定制反应 (customizable response) 的免疫细胞, 可以将药物或者其他治疗载体运送到肿瘤或其他不正常的组织中。这些被称为 SynNotch (synthetic Notch) T 细胞的免疫细胞可以高效地靶向肿瘤细胞, 释放一种特定的抗体药物, 将这套系统用到 CAR-T 细胞中, 使得 CAR-T 细胞也可

以分泌 PD-L1 单抗,从而改善免疫抑制的微环境^[9],详见图 1B。

1.3 表达趋化因子的 CAR-T 细胞

抗 GD2 的 CAR-T 细胞治疗成神经细胞瘤,在此基础上增加另外一段趋化因子 CCR2b。由于成神经细胞瘤细胞不仅表达肿瘤抗原 GD2,而且还表达针对 CCR2b 的配体 CCL2。因此,表达趋化因子的 CAR-T 细胞提高了 CAR-T 细胞对于肿瘤组织的迁移能力,使得 CAR-T 细胞和肿瘤充分接触,提高了 CAR-T 细胞的疗效^[10]。

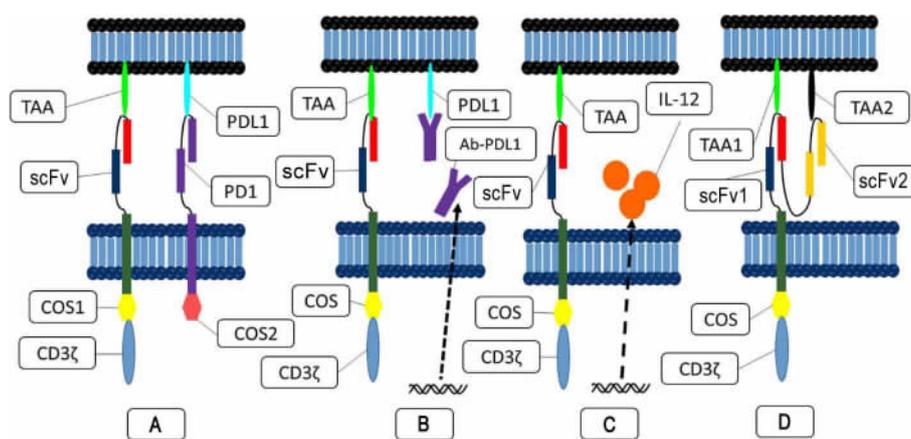
1.4 能自分泌 IL-12 的 CAR-T 细胞

IL-12 属于 Th1 类细胞因子,它可以提高免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤活性,但是全身使用 IL-12 会产生一些难以耐受的副作用和自身免疫疾病。构建的 CAR-T 细胞表达能分泌 IL-12,使得 CAR-T 细胞在被激活时可自分泌 IL-12,在一定程度上可以改善免疫抑制微环境,而且还可以使 CAR-T 细胞周围失

活的肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)受到 IL-12 的刺激被重新激活,从而增强免疫杀伤细胞其对肿瘤的杀伤作用。这种可以自分泌细胞因子并且刺激自身增殖的 CAR-T 细胞也称为武装的 CAR-T 细胞(armed CAR-T cells)^[11],详见图 1C。

1.5 双靶点串联的 CAR-T 细胞

尽管 CAR-T019(针对 CD19 这个靶点的 CAR-T 细胞)在治疗复发难治的 B 细胞恶性肿瘤上取得了良好的疗效,但是仍约有 11% 的患者在接受 CAR-T019 的治疗后,产生了 CD19⁻ 肿瘤的复发,故全面彻底清除掉 B 细胞肿瘤就显得极为重要。因此有研究者^[12]针对此设计了 CD19 和 CD20(B 细胞同时也高表达 CD20)串联表达于 T 细胞表面的 CAR-T 细胞,既可以提高 CAR-T 细胞对于 B 细胞恶性肿瘤的杀伤能力,又减少 CD19⁻ 的 B 细胞肿瘤的复发率,详见图 1D。



A: 反转免疫抑制信号的设计; B: 可分泌 PD-L1 单抗的 CAR-T 细胞;
C: 能自分泌 IL-12 的 CAR-T 细胞; D: 双靶点串联 CAR-T 细胞

图 1 增强 CAR-T 细胞有效性设计的示意图

2 提高 CAR-T 细胞安全性的设计

由于 CAR-T 细胞所针对的靶点多数在正常细胞也表达,因此 CAR-T 细胞在攻击肿瘤细胞的同时也会攻击正常细胞。抗 Her2 靶点的 CAR-T 细胞在治疗晚期结肠癌时患者就出现了致命性的急性呼吸衰竭综合征,其因为表达于肿瘤细胞表面的 Her2 也表达于正常的肺上皮细胞,因此输注的 CAR-T 细胞循环到肺时也产生了对肺上皮细胞的攻击^[13]。如何优化 CAR-T 细胞设计,使 CAR-T 细胞既可以特异性地杀伤肿瘤细胞又能在体内被系统性地控制,笔者总结了如何提高 CAR-T 细胞安全性的五种设

计方法,其示意图如图 2 所示。

2.1 安装自杀基因

目前针对 CAR-T 细胞的自杀基因常见的设计设计有以下三种,分别是:(1)疱疹病毒中的胸苷激酶(ZVZ-TK)——ZVZ-TK 可以使得更昔洛韦转变成三磷酸更昔洛韦,从而诱导 CAR-T 细胞死亡;(2)Caspase-9 可以被小分子化合物 AP1903 诱导二聚化,从而启动 CAR-T 细胞的凋亡通路;(3)CAR-T 细胞同时表达 EFE α ,当出现不可控制的副作用时,给患者输注针对 EFE α 的单抗,就会出现 EFE α 抗体诱导的 ADCC 效应,使 CAR-T 细胞被清除。给 CAR-T 细胞安装自杀基因的目的是通过清除 CAR-

T 细胞来发挥作用的,这样虽然控制了 CAR-T 细胞的副作用,但也清除掉 CAR-T 细胞^[14]。

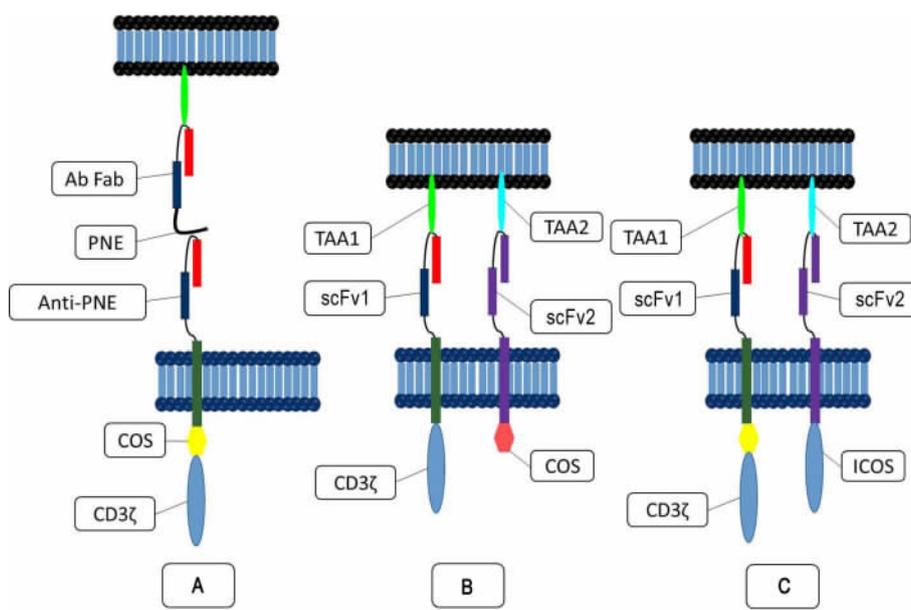
2.2 通过特异性抗体和 CAR-T 细胞的偶联来控制 CAR-T 细胞和肿瘤细胞结合

通过特异性抗体[一端是抗肿瘤抗原的 Fab 端,另一端是 PNE(peptide neo-epitopes 端)和 CAR-T 细胞(CAR 可与 PNE 端结合)结合的方法来控制 CAR-T 细胞的安全性。当 CAR-T 细胞和这种特异性抗体同时给患者输注时,CAR-T 细胞就能通过特异性的抗体和肿瘤细胞结合,达到杀伤肿瘤细胞的功能;当肿瘤细胞被清除以后,只要不再输注特异性的抗体,CAR-T 细胞就不能再和肿瘤细胞结合发挥其对肿瘤细胞的特异性免疫杀伤作用(由于 CAR-T 细胞中 CAR 的设计并不直接针对肿瘤细胞)^[15],详

见图 2A。

2.3 双特异性的 CAR-T 细胞

上皮细胞肿瘤表达叶酸受体和间皮素受体,而正常细胞仅表达其中之一的抗原表位,设计将共刺激分子和 CD3 ζ 链分别连接于不同肿瘤表位的双特异性的 CAR-T 细胞。其设计的原理是将其针对抗原表位之一的 CAR 连接于胞内段的共刺激分子,再将针对另外一抗原表位的 CAR 连接于 CD3 ζ 链。当肿瘤细胞和双特异性 CAR-T 细胞结合后会激活共刺激分子和 CD3 ζ 链, CAR-T 细胞就会被激活去杀伤肿瘤细胞;而正常细胞只表达其中之一的抗原,那么只能活化共刺激分子或者 CD3 ζ ,这样就不能完全活化 CAR-T 细胞,因而 CAR-T 细胞并不能杀伤正常的组织细胞^[16],详见图 2B。



A:通过特异性抗体和 CAR-T 细胞的偶联来控制 CAR-T 细胞和肿瘤细胞结合的设计;

B:双特异性的 CAR-T 细胞设计;C:ICAR 的设计

图 2 增强 CAR-T 细胞安全性设计的示意图

2.4 ICAR 的设计

对于一些肿瘤细胞只特异性表达一种抗原表位,但是正常细胞表达这样的抗原表位之外还表达另外一种抗原表位。因此就有研究人员^[17]利用这一特性设计出抑制嵌合抗原受体(inhibitory chimeric antigen receptors, ICAR)细胞,它有两个 scFv 序列——其中之一是针对肿瘤细胞所设计的,其胞内段是活化被修饰 T 细胞活性的活化序列;另外一段 scFv 序列是针对正常组织的,其胞内段是抑制被修饰 T 细胞活化的 PD-1 或者 CTLA4 的胞内段序列。当 ICAR-T 细胞和肿瘤细胞结合,由于肿瘤

细胞只表达活化被修饰 T 细胞的抗原表位,因此会激活 ICAR 细胞,从而杀伤肿瘤细胞;当时当 ICAR 细胞和正常细胞结合之后,就会产生抑制 ICAR 细胞活性的信号,因此 ICAR 细胞并不会被激活。通过这样的设计可以有效地避免脱靶效应,使得 ICAR-T 细胞只特异性地杀伤肿瘤细胞,详见图 2C。

3 提高 CAR-T 细胞有效性和安全性的其他措施

肿瘤细胞有一定的异质性,而且肿瘤的发展也和肿瘤微环境是一个相互影响的过程,那么针对肿瘤的治疗也需要是一个综合立体化治疗的过程。

CAR-T 细胞的设计往往是针对肿瘤细胞的杀伤,但是真正的肿瘤微环境可能存在很多对于 CAR-T 激活不利的因素,因此联合可以改善免疫微环境的药物改善免疫抑制微环境就显得尤为重要。以下对研究热门的免疫检查点抑制药物和 CAR-T 细胞的联合使用,供者来源的 T 细胞制备 CAR-T 细胞,以及如何制备通用型的 CAR-T 细胞等问题进行讨论。

3.1 CAR-T 细胞和免疫检查点抑制剂的联合使用

CAR-T 细胞和免疫检查点抑制剂联合使用可以减弱免疫抑制信号对于 CAR-T 细胞活性的抑制,有动物实验^[18]表明,抗 HER2⁺ 的 CAR-T 细胞和 PD-1 单抗联合使用,其对肿瘤的杀伤作用强于单独使用 CAR-T 细胞,PD-1 单抗封闭了 T 细胞的 PDL-1,阻止了 PD-1 和肿瘤的 PD-1 结合,从而增强了 CAR-T 细胞的杀伤能力。同时还有研究发现,将治疗 CLL 的 CD19 CAR-T 细胞和免疫调节药物依鲁替尼(ibrutinib)联用可以下调 T 细胞和肿瘤细胞上 PD-1 的表达,从而提高了 CD19 CAR-T 细胞杀伤肿瘤细胞的效果。

3.2 供者来源 CAR-T 细胞的使用

对于移植后复发难治 B 细胞肿瘤可以采用供者来源的 T 细胞制备 CAR-T 细胞,对患者进行回输,达到治愈的目的。因为很多复发难治的 B 细胞肿瘤患者本身由于巨大的肿瘤负荷导致体内的免疫功能受损,其体内的 T 细胞也受到损害。患者自身的 T 细胞所制备 CAR-T 细胞难以有效扩增,细胞数也可能达不到入组条件的要求,从而影响疗效。根据美国国家癌症研究中心最近开展的临床试验^[19]表明:对于 20 例移植后复发的 B 细胞肿瘤患者,采用了供者来源的 CAR-T 细胞的治疗,其中共有 6 例患者获得了 CR,2 例患者获得了 PR;5 例 ALL 患者有 4 例取得了 CR,同时还有 1 例慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)患者取得了 30 个月长期缓解。

异体的 T 细胞输注存在免疫排异的风险,但是抗病毒(CMV、EBV)特异性 T 细胞由于其 T 细胞主要表达抗病毒的 TCR,所以降低了免疫排异的风险。因此用供者来源的抗病毒 T 细胞制备的 CAR-T 细胞能避免免疫排异的风险。同时由于抗病毒特异性 CAR-T 细胞可以通过 TCR 和 CAR 两条信号通路刺激、活化、分泌细胞因子,因此其增殖优于一般的异体来源 T 细胞所制备的 CAR-T 细胞^[20]。

有研究者^[21]利用最新的 CRISP/Cas9 技术将 CAR 的这段基因定点插入到原来 T 细胞的 TCR 位置,这样的设计避免了用逆转录病毒或者慢病毒随机

插入的缺陷——有可能导致插入突变而致癌,同时也在一定程度上消除了异体 T 细胞输注到第三者的排异风险。同时由于这样制备的 CAR-T 细胞可以得到更加适当的刺激,所以其分化和扩增持续的时间要比传统的 CAR-T 细胞时间更长。

3.3 通用型 CAR-T 细胞的制备

CAR-T 细胞给恶性肿瘤的治愈带来了曙光,但稳定可靠的疗效,则依赖于规范标准化的 CAR-T 细胞制备。由于每个患者的基本情况不一样,所以很难获得均一性良好的 T 细胞,因此统一标准的细胞来源以及制备工艺,是获得稳定可靠的 CAR-T 细胞的根本前提。目前对于 CAR-T 细胞的制备工艺分为病毒转染和非病毒转染,转染 CAR 的操作目前可以规范化操作,但是如何使每个患者所使用的细胞达到较好的均一性,则是目前的一个难题。有研究者^[22]采用 NK-92 细胞系来制备 CAR-NK 细胞,这样的方法可以获得均一性较好的免疫细胞,但是 CAR-NK 细胞也存在转染效率低以及在体内不能持续扩增等问题;也有研究者^[23]采用第三方的免疫细胞,然后用基因编辑技术将其改造成可以输注给患者使用的通用型 CAR-T 细胞(universal CAR-T cells),但是其制备工艺相对复杂,安全性和有效性需要进一步的验证。因此,如何用最简单的工艺制备出安全有效的通用型 CAR-T 细胞还需进一步研究。

4 结 语

CAR-T 细胞可以直接执行特异性的肿瘤细胞杀伤,相比较其他免疫治疗的方法,CAR-T 细胞能更快和更加明确地清除肿瘤细胞,并且不受 T 细胞识别杀伤肿瘤细胞的 MHC 分子识别的限制。但是目前而言,CAR-T 细胞能针对的肿瘤主要还是血液肿瘤和一部分淋巴瘤;CAR-T 细胞输注到体内,不受控制地进行扩增,产生了一系列不良反应,最常见的为细胞因子释放综合征和脱靶效应。笔者主要从 CAR-T 细胞的结构设计上优化 CAR-T 细胞的性能,总结了国内外的研究进展,但是结构的优化只是 CAR-T 细胞设计中的其中一个视角。如何提高 CAR-T 细胞治疗的有效性和安全性是一个可以从多角度进行探索的问题,如何设计出最优的 CAR-T 细胞还需要细胞免疫治疗的同仁们共同努力来取得新的突破。

[参 考 文 献]

- [1] KENDERIAN S S, PORTER D L, GILL S. Chimeric antigen receptor T cells and hematopoietic cell transplantation: how not to put the CART before the horse[J]. Biol Blood Marrow Trans-

- plant, 2017, 23(2): 235-246. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.09.002.
- [2] SINGH N, FREY N V, GRUPP S A, et al. CAR T cell therapy in acute lymphoblastic leukemia and potential for chronic lymphocytic leukemia [J/OL]. *Curr Treat Options Oncol*, 2016, 17(6): 28 [2017-03-20]. <http://link.springer.com/journal/11864>. DOI: 10.1007/s11864-016-0406-4.
- [3] BEATTY G L, OHARA M. Chimeric antigen receptor-modified T cells for the treatment of solid tumors: defining the challenges and next steps [J/OL]. *Pharmacol Ther*, 2016, 166:30-39 [2017-03-20]. <http://sciencedirect.com/science/journal/01637258>. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.06.010.
- [4] 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.
- [5] SHARMA P, HU-LIESKOVAN S, WARGO J A, et al. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy [J]. *Cell*, 2017, 168(4): 707-723. DOI: 707-723. 10.1016/j.cell.2017.01.017.
- [6] DAVILA M L, RIVIERE I, WANG X, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia [J/OL]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(224): 224ra25 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4684949/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008226.
- [7] LIU X, RANGANATHAN R, JIANG S, et al. A chimeric switch-receptor targeting PD1 augments the efficacy of second-generation CAR T cells in advanced solid tumors [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(6): 1578-1590. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2524.
- [8] SUAREZ E R, CHANG DE K, SUN J, et al. Chimeric antigen receptor T cells secreting anti-PD-L1 antibodies more effectively renal cell carcinoma in a humanized mouse model [J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 34341-34355 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5085160/>. DOI: 10.18632/oncotarget.9114.
- [9] MORSUT L, ROYBAL K T, XIONG X, et al. Engineering customized cell sensing and response behaviors using synthetic notch receptors [J]. *Cell*, 2016, 164(4): 780-791. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.012.
- [10] CRADDOCK J A, LU A, BEAR A, et al. Enhanced tumor trafficking of GD2 chimeric antigen receptor T cells by expression of the chemokine receptor CCR2b [J]. *J Immunother*, 2010, 33(8): 780-788. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181ee6675.
- [11] 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/OL]. *J Transl Med*, 2015, 13:102 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4438636/>. DOI: 10.1186/s12967-015-0460-x.
- [12] ZAH E, LIN M Y, SILVA-BENEDICT A, et al. T cells expressing CD19/CD20 bispecific chimeric antigen receptors prevent antigen escape by malignant B cells [J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(6): 498-508. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0231.
- [13] 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): 843-451. DOI: 10.1038/mt.2010.24.
- [14] BONIFANT C L, JACKSON H J, BRENTJENS R J, et al. Toxicity and management in CAR T-cell therapy [J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3: 16011 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5008265/>. DOI: 10.1038/mto.2016.11.
- [15] RODGERS D T, MAZAGOVA M, HAMPTON E N, et al. Switch-mediated activation and retargeting of CAR-T cells for B-cell malignancies [J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(4): E459-468 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4743815/>. DOI: 10.1073/pnas.1524155113.
- [16] LANITIS E, POUSSIN M, KLATTENHOFF A W, et al. Chimeric antigen receptor T cells with dissociated signaling [J]. *Cancer Immunol Res*, 2013, 1(1): 43-53. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0008.
- [17] 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 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4238416/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3006597.
- [18] ANKRI C, COHEN C J. Out of the bitter came forth sweet activating CD28-dependent co-stimulation via PD-1 ligands [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2014, 3(1): e27399 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3976982/>. DOI: 10.4161/onci.27399.
- [19] BRUDNO J N, SOMERVILLE R P, SHI V, et al. Allogeneic T cells that express an anti-CD19 chimeric antigen receptor induce remissions of B-cell malignancies that progress after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation without causing graft-versus-host disease [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(10): 1112-1121. DOI: 1112-21. 10.1200/JCO.2015.64.5929.
- [20] TERAKURA S, YAMAMOTO T N, GARDNER R A, et al. Generation of CD19-chimeric antigen receptor modified CD8⁺ T cells derived from virus-specific central memory T cells [J]. *Blood*, 2012, 119(1): 72-82. DOI: 10.1182/blood-2011-07-366419.
- [21] EYQUEM J, MANSILLA-SOTO J, GIAVRIDIS T, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection [J]. *Nature*, 2017, 543(7643): 113-117. DOI: 10.1038/nature21405.
- [22] KLINGEMANN H. Are natural killer cells superior CAR drivers? [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e28147 [2017-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4203506/>. DOI: 10.4161/onci.28147.
- [23] POIROT L, PHILIP B, SCHIFFER-MANNIOUI C, et al. Multiplex genome-edited T-cell manufacturing platform for "off-the-shelf" adoptive T-cell immunotherapies [J]. *J Immunol*, 2015, 195(18): 3853-3864. DOI: 10.1158/0008-5472.can-14-3321.

[收稿日期] 2017-03-22 [修回日期] 2017-04-13

[本文编辑] 党瑞山