

## CAR-T在实体瘤治疗中的抗原选择及其相关临床研究现状

### Antigen selection and related clinical research status of CAR-T in treating solid tumors

何海霞<sup>1,2</sup>, 石华山<sup>1,2</sup>综述; 陈念永<sup>1</sup> 审阅(1. 四川大学华西医院头颈肿瘤科, 四川成都 610041; 2. 四川大学生物治疗国家重点实验室, 四川成都 610041)

**[摘要]** CAR-T是一种基因改造后的细胞免疫治疗手段, T细胞输入体内后可持续活化增殖, 非限制性识别并杀伤肿瘤细胞。嵌合CD19受体的CAR-T在急性淋巴细胞白血病中的平均有效率接近80%, 但在实体肿瘤中却未观察到明显疗效。肿瘤抗原识别不佳及肿瘤微环境抑制是影响疗效的主要原因, 提升抗原的特异性既能增加疗效也能避免脱靶效应的发生。本文主要综述肿瘤抗原的特点及其在CAR-T治疗实体瘤中的应用现状, 重点分析神经节苷酯(disialoganglioside, GD2)、EGFRvIII、CEA抗原特点及应用情况, 探讨如何对抗原进行精准选择, 其中基因突变后产生的新抗原最有成为特异性抗原的潜力。

**[关键词]** 抗原选择; 嵌合抗原受体; CAR-T; 实体瘤; 神经节苷酯; EGFRvIII; CEA

**[中图分类号]** R730.51; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)04-0414-07

基于肿瘤抗原特异性设计的嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor-T cells, CAR-T)治疗是目前国内外肿瘤研究的热点。2017年8月, 全球首个采用基因修饰的靶向CD19的自体T细胞免疫治疗药物tisagenlecleucel(商品名Kymriah)在美国被FDA批准上市, 用于治疗25岁以下复发难治性急性B淋巴细胞白血病(B-acute lymphocytic leukemia, B-ALL)<sup>[1]</sup>。同年10月, 第二款治疗复发难治性大B细胞淋巴瘤(large B cell lymphoma, LBCL)的CAR-T产品KTE-C19(商品名Yescarta)再次获批, 引发人们对CAR-T治疗关注的热潮。以CD19为代表的CAR-T疗法平均有效率接近80%<sup>[2-3]</sup>, 有望成为完全消灭血液肿瘤的明星药物。尽管如此, CAR-T在实体瘤中探索的十余年里鲜有疗效, 实体瘤抗原多为肿瘤相关抗原, 在正常组织中仍有分布, CAR-T识别正常组织后导致脱靶效应发生, 甚至引起全身多器官衰竭并危及生命。为达疗效输注足量CAR-T后可导致对正常组织的攻击, 引起大量T细胞激活, 继发细胞因子风暴, 又限制了CAR-T在实体瘤的应用。因此, 提升抗原的特异性既能增加疗效也能避免脱靶效应的发生。本文将结合最新研究进展分析CAR-T治疗实体瘤的抗原特点及应用情况, 在此基础上探讨抗原精准选择的相关策略和获益。

#### 1 CAR-T的研究概况

##### 1.1 CAR-T的研发历程

CAR-T治疗是将靶向肿瘤抗原的抗体基因序列导入T细胞内进行基因修饰, 体外扩增后T细胞表面

稳定表达识别肿瘤抗原的受体及增加活性的共刺激分子, 可不受MHC限制直接识别并杀伤肿瘤<sup>[4]</sup>。转导到T细胞上的信号域由胞内信号区、中间的穿膜区及胞外抗原结合区组成, 胞内信号区为串联免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM), 通常为CD3 $\zeta$ 链, Fc $\epsilon$ RI $\gamma$ 链因杀伤肿瘤效果弱而少用。根据胞内信号区的复杂程度将CAR-T分为四代, 除第一代外均携有协同刺激分子, 最常见的是CD28及4-1BB, 可激活相关信号通路增强T细胞杀伤肿瘤活性<sup>[5]</sup>。第四代CAR除上述结构外携带有可释放促炎性因子的基因(如IL-2), 有助于招募并活化免疫细胞, 增强免疫反应<sup>[6]</sup>。在二代CAR-T的基础上通过改变胞内外结构域已衍生出了10种新的CAR-T, 包括表达抗肿瘤因子CAR(TRUCK)、双串联CAR(Tandem CAR)、条件CAR(cCAR-T)等, 以增强CAR-T特异性识别能力<sup>[7]</sup>。

##### 1.2 CAR-T在血液肿瘤治疗中有良好效果

血液肿瘤是最先开始进行CAR-T临床研究的肿瘤, 多数研究显示血液肿瘤对其治疗的反应率较传统的化疗和移植更为有效。血液肿瘤中可供CAR-T选择的细胞表面抗原CD19、CD20、CD22、CD30

**[基金项目]** 国家重点研究发展计划资助项目(No. 2016YFC3030403); 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(No. 2014AA020704)。Project supported by the Key R&D Program of China (No. 2016YFC1303403), and the National High-tech R&D program (863 Program) of China(No. 2014AA020704)

**[作者简介]** 何海霞(1992-), 女, 硕士, 住院医师, 主要研究方向为CAR-T治疗肿瘤的临床应用相关研究, E-mail: helenhezlk@163.com

**[通信作者]** 陈念永(CHEN Nianyong, corresponding author), 博士, 留美博士后, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤放射治疗、免疫治疗的基础与临床研究, E-mail: n\_ychen@hotmail.com

等。RAPONI等<sup>[8]</sup>发现,CD19在ALL中稳定表达,阳性率达100%,CD20与CD22表达率仅有93%与30%。至今为止,已有超过300例CD19 CAR-T应用于ALL,不考虑试验的异质性,完全缓解(complete response, CR)率接近80%;超过200例用于NHL和CLL,CR率大约为60%<sup>[9-10]</sup>。CD20和CD22修饰的CAR-T治疗仅有少量病例报道,CR率约为44%<sup>[11-12]</sup>。CAR-T在血液肿瘤治疗中最常见的毒副反应为细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS),发热、神经损害也较为常见,严重的CRS发生率约为14%~28%<sup>[13]</sup>。

### 1.3 CAR-T在实体瘤治疗中面临的困境及其原因

1.3.1 困境 CAR-T在实体瘤应用中最大的困境是如何实现其治疗的安全性和有效性,实体瘤的脱靶效应、细胞因子风暴、肿瘤溶解综合征等各种不良反应的发生降低了治疗的安全性,CAR-T的有效性则受抗原的亲合力、体内存活时间、浸润实体瘤的程度及肿瘤微环境的影响<sup>[14]</sup>。目前临床应用的CAR-T尚未达到两者兼顾,对多数实体瘤的有效率低于20%。实体瘤应用中发生的脱靶效应所带来的器官毒性降低了CAR-T的安全性,为提高安全性,选择降低抗原的亲合力则削弱了疗效。如MORGAN等<sup>[15]</sup>研究第三代HER2 CAR-T对实体瘤的疗效,出现1例结肠癌合并肝肺转移患者在行化疗后输注 $1 \times 10^{10}$ 个细胞后4 h便识别并攻击表达HER2的正常肺细胞,血液中检测出高水平的细胞因子,引发细胞因子风暴从而导致死亡。后改为使用二代CAR-T、下调输注剂量、取消输注前预处理,在治疗的17例HER2阳性的肉瘤中,仅有1例患者输注后发热,安全性提高但首次输注后却无一例CR<sup>[16]</sup>。

1.3.2 原因 (1)T细胞无法归巢:T细胞表面缺乏相关因子受体,无法识别肿瘤释放的CXCL15等趋化因子导致无法定位,肿瘤周围的基质、致密的结缔组织等结构影响细胞归巢<sup>[17]</sup>;(2)肿瘤抗原识别不佳:T细胞无法识别抗原表达较低及具有异质性的肿瘤组织,也可能攻击表达同种抗原的正常组织器官<sup>[18]</sup>;(3)肿瘤微环境抑制:酸性环境、低氧、低糖等因素不利于T细胞的增殖活化,微环境中的免疫抑制细胞如调节性T细胞(Treg)、调节性B细胞(Breg)等抑制T细胞向肿瘤的迁移,减少抗原提呈,降低效应T细胞的活性<sup>[19-20]</sup>;(4)T细胞迅速凋亡:T细胞在体内增殖和存活的时间太短,输注后4~6周CAR-T数量即下降到难以检测到的水平<sup>[21]</sup>;(5)T细胞难以控制:CAR-T过度激活后发生细胞因子风暴,导致组织及器官发生损害,部分患者用药后仍难以控制发生死亡<sup>[22-24]</sup>。

## 2 抗原选择的重要作用和意义

实体瘤疗效低于血液肿瘤的原因之一是肿瘤抗原的不同,实体瘤在原发灶或原发灶及转移灶之间可存在异质性,导致同一肿瘤患者体内存在多种抗原,而同一血液肿瘤多均质性表达同一抗原<sup>[25]</sup>。RUELLE等<sup>[26]</sup>研究发现,CD123 CAR-T在清除霍奇金淋巴瘤的同时识别肿瘤相关巨噬细胞,克服肿瘤微环境中的相关免疫抑制,研究中观察到肿瘤明显坏死;另一个CD70 CAR-T用于神经胶质瘤的研究<sup>[27]</sup>观察到其能通过与CD27作用后促进TIL杀伤肿瘤细胞,从而改善肿瘤微环境的抑制作用,提示选择合适的抗原可能进一步改善肿瘤微环境。SADELAIN等<sup>[28]</sup>认为,抗原突变数越少的肿瘤,肿瘤异质性越低,肿瘤抗原特异性越高,CAR-T治疗此类肿瘤效果越好。抗原选择的精度便是免疫治疗这把枪瞄准器的精度,良好的肿瘤抗原不仅增强杀伤肿瘤作用,也可避免脱靶效应和肿瘤微环境的抑制,通过联合细胞因子、抗体、T细胞免疫检查点抑制剂进一步克服微环境抑制作用后,发挥抗肿瘤效应。实体肿瘤相关性抗原种类多、可供选择性高,但肿瘤特异性抗原目前是极其缺少的,从已完成的试验中提取更多有用的信息去帮助优化新产品,寻找表达均质而独特的特性性抗原是促进CAR-T治疗发展的关键。

## 3 基于不同抗原的CAR-T治疗实体瘤现状分析

笔者在国际临床试验注册网站(www.clinicaltrials.gov)上搜索了与CAR-T相关的342项已注册的临床试验,美国正在进行中的试验占总比重的68.97%,中国仅占53.85%(表1)。排除血液系统肿瘤,有73项临床试验将CAR-T应用于实体肿瘤。实体瘤中CAR-T可选的细胞表面抗原丰富,目前用于CAR-T研究的抗原接近30种(图1)。临床应用注册数较多的有神经节苷酯(disialoganglioside, GD2)、间皮素、磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(glypican-3, GPC3)。其中GD2在成神经细胞瘤中表达率接近100%<sup>[29-30]</sup>,间皮素在胸膜间皮瘤中高表达<sup>[31]</sup>,GPC3在原发性肝癌中表达率高达70%~100%,其余组织中低表达或不表达<sup>[32]</sup>,表明临床研究仍倾向于研究特异性较高的抗原。

表2列举了招募中的实体瘤CAR-T治疗的临床试验情况,可以看出,在多种肿瘤上均可表达的抗原,如上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)、间皮素、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)等,也可制备成CAR-T治疗多种肿瘤。CEA CAR-T在多种实体瘤中疗效欠佳,提示靶向多种肿瘤的CAR-T抗原特异性更差。

表1 在国际临床试验注册网上注册及正在招募的CAR-T治疗的分布情况(n)

	美国	中国	欧洲	加拿大	中东	南美洲	帕锡菲卡	北亚	日本	非洲	中美洲	墨西哥	总计
注册	145	117	45	13	11	6	5	3	3	1	1	1	342
招募	100	63	19	6	2	1	2	0	2	1	0	0	182

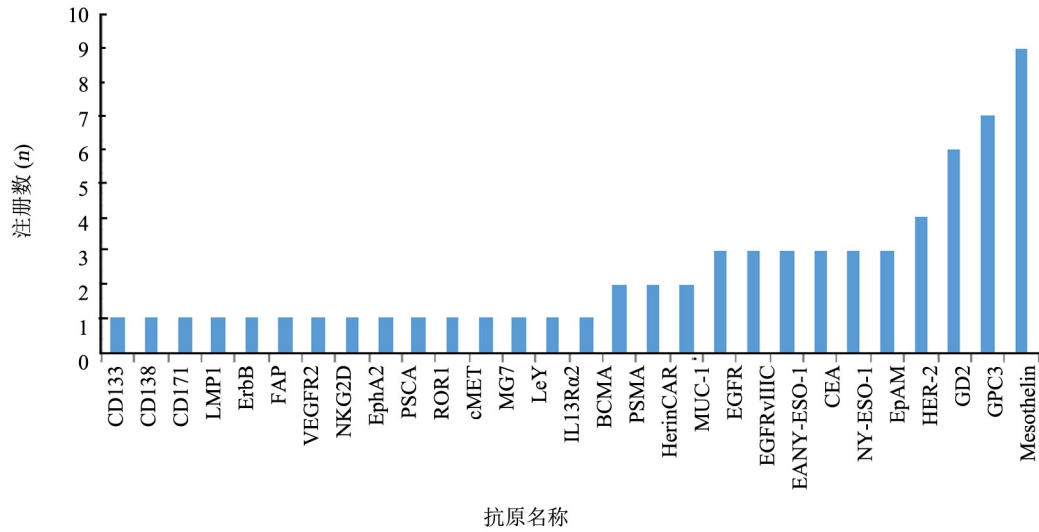


图1 招募中的靶向实体瘤CAR-T治疗在国际临床试验注册网站上的抗原注册情况

表2 招募中的实体瘤CAR-T治疗

抗原	临床试验ID	开始日期	肿瘤	国家	中心	例数
VEGFR2	NCT01218867	2010-10	转移性癌等	美国	美国国立癌症研究所	24
CD138	NCT01886976	2013-06	多发性骨髓瘤	中国	解放军总医院	10
CD171	NCT02311621	2014-11	神经/节母细胞瘤	美国	西雅图儿童医院	40
FAP	NCT01722149	2014-12	恶性胸膜间皮瘤	瑞士	苏黎世大学医院	6
IL13Rα2	NCT02208362	2015-05	胶质瘤等	美国	美国国立癌症研究所	100
ErbB	NCT01818323	2015-06	头颈部肿瘤	英国	盖伊医院	30
CD133	NCT02541370	2015-11	肝癌等	中国	解放军总医院	20
EphA2	NCT02575261	2015-11	恶性胶质瘤	中国	复大肿瘤医院	60
ROR1	NCT02706392	2016-03	乳腺癌等	美国	弗莱德哈钦森癌症研究中心	60
MG7	NCT02862704	2016-06	肝癌	中国	西京医院	20
LeY	NCT02958384	2016-10	恶性骨髓瘤	中国	西南医院	45
NKG2D	NCT03018405	2016-11	结直肠癌等	美国	比利时生物技术公司	24
LMP1	NCT02980315	2016-11	鼻咽癌	中国	南京医科大学第二附属医院	20
PSCA	NCT02744287	2016-11	胰腺癌	美国	贝勒萨蒙斯癌症中心	30
cMET	NCT03060356	2016-12	多发性骨髓瘤	美国	宾夕法尼亚大学	10
BCMA	NCT03070327	2017-02	多发性骨髓瘤	美国	纪念斯隆-凯特林癌症中心	24
PSMA	NCT03089203	2017-03	前列腺癌	美国	宾夕法尼亚大学	18
HerinCAR-PD1	NCT02862028	2016-08	肺/肝/胃癌	中国	上海国际医疗中心	20
EGFR	NCT03182816	2017-06	进展期实体瘤	中国	上海细胞治疗研究所	40
MUC-1	NCT03179007	2017-06	进展期实体瘤	中国	上海细胞治疗研究所	40
Mesothelin	NCT03182803	2017-06	实体瘤	中国	上海细胞治疗研究所	40
EGFRvIII	NCT02664363	2017-02	胶质瘤切除术后	美国	杜克大学医学中心	48
CEA	NCT02349724	2014-12	肺/乳腺/胰腺/胃肠道癌	中国	西南医院	75
NY-ESO-1	NCT03029273	2017-03	非小细胞肺癌	中国	广州呼吸疾病研究所	20
EpCAM	NCT02915445	2016-07	鼻咽/乳腺癌	中国	四川大学华西医院	20
HER-2	NCT02713984	2016-03	乳腺癌/卵巢癌等	中国	西南医院	60
GD2	NCT02919046	2016-11	成神经细胞瘤	中国	南京儿童医院	22
GPC3	NCT03130712	2017-04	肝细胞癌	中国	解放军302医院	10

HerinCAR-PD1: 靶向EGFR家族、同时能表达PD-1抗体的CAR-T

## 4 重要肿瘤抗原的特点及其在实体瘤治疗中的应用

肿瘤抗原的特点各不相同,在比较抗原特异性方面目前尚无明确标准。为了对选择抗原有所提示,重点分析在CAR-T临床应用中具有代表性的部分抗原的特点及应用现状,包括在CAR-T应用中最具有特异性抗原特质的上皮生长因子受体突变体3型(the type III epidermal growth factor deletion-mutant receptor, EGFR vIII)、已证实有效的GD2和未见明显疗效的CEA等抗原。

### 4.1 EGFR vIII

EGFR是一种穿膜酪氨酸激酶受体,从属于表皮生长因子受体家族<sup>[33]</sup>,EGFR外显子缺失后产生的突变体形成EGFRvIII,其仅表达于肿瘤组织,在神经胶质瘤中的表达率为25%~33%,已证实其能减少细胞凋亡,促进血管生成,从而加速肿瘤增殖及侵袭<sup>[34]</sup>。神经胶质瘤细胞系和小鼠模型测验均显示抗EGFRvIII的CAR-T可控制肿瘤生长,且未见明显毒性<sup>[35-36]</sup>。2016年韩为东教授<sup>[37]</sup>在非小细胞肺癌中应用EGFR作为CAR-T靶点进行治疗,11例患者中有2例达到CR、5例达SD。O'ROURKE等<sup>[38]</sup>首次公布将EGFRvIII CAR-T应用在10例复发难治神经胶质瘤的患者的数据,6例输注CAR-T后未手术患者中有5例为SD,其中1例SD的患者术后存活时间超18个月,且明显观察到CAR-T在血中扩增及患者脑组织CAR-T浸润。颅脑肿瘤独特的血脑屏障、组织周围反应性坏死水肿等可能会影响此抗原的疗效评估。

### 4.2 GD2

GD2是一种神经系统细胞膜的糖鞘脂类化合物,在所有的成神经细胞瘤中高表达,也可表达于恶性黑色素瘤、肉瘤、神经外胚层肿瘤,骨髓间充质细胞是正常组织中唯一表达GD2的细胞,具有调节细胞膜内蛋白质的功能,介导肿瘤细胞黏附,促进肿瘤原发与转移<sup>[29-30]</sup>。在PULE和LOUIS应用GD2 CAR-T治疗成神经细胞瘤的经典研究<sup>[39-40]</sup>中,19例患者的客观缓解率达21%,CR的持续时间最长者超4年,除轻度疼痛外未见明显副作用。2016年,GARGETT等<sup>[41]</sup>报道了导入*case-9*自杀基因的GD2 CAR-T治疗4例黑色素瘤患者的研究,自杀基因可使T细胞自行凋亡,避免抗原大量激活导致的CRS,为保护CAR-T活性,3例患者同时应用PD-1抑制剂,未见明显疗效。2017年,贝勒医学院公布一项对成神经细胞瘤患者应用GD2-CAR-T的研究<sup>[42]</sup>,11例患者中有5例达SD,经后续补充治疗2例达CR;使用化疗预处理后,CAR-T及IL-15均有所增加,而同时应用PD-1抑制剂疗效未见明显差别,未观察到明显毒副反应。

### 4.3 CEA

CEA是一组酸性糖蛋白,为组织非特异性肿瘤标志物,多表达于卵巢癌、胃癌、结直肠癌、乳腺癌等肿瘤,和一些正常胃肠和胆囊上皮细胞<sup>[43]</sup>。CEA与肿瘤分期呈正相关,CEA含量增加提示肿瘤组织分化低恶性程度高<sup>[44]</sup>。6例肝转移癌患者接受CEA CAR-T治疗后,5例PD,1例SD,但治疗后血清CEA平均下降37%(19%~48%),全部进行肝活检后发现4例坏死或纤维化,除1例3度发热外未见明显毒性<sup>[45]</sup>。2017年,第三军医大学钱程教授团队将CEA CAR-T采用剂量递增模式应用于10例晚期结直肠癌,有7例疾病稳定,其中2例SD达30周,另外2例患者可见肿瘤缩小,均观察到血清CEA不同程度下降<sup>[21]</sup>,CEA CAR-T治疗实肿瘤可能有效,但疗效甚微。

### 4.4 EpCAM

EpCAM抗原特点与CEA十分相似,是一种单次穿膜糖蛋白,参与调节细胞黏附和迁移,调控增殖和分化以及介导信号转导,在多种上皮来源肿瘤中高表达,口腔鳞癌中阳性率可达85%,正常口腔黏膜未见表达<sup>[46]</sup>,在乳腺癌中表达率约为48%,正常乳腺组织有10%表达<sup>[47]</sup>。部分研究者<sup>[48]</sup>认为,EpCAM表达于肿瘤干细胞的特点可能同时对实体肿瘤微环境产生破坏作用。目前笔者团队开始初步探索EpCAM CAR-T对难治性EpCAM阳性的实体瘤安全性及有效性(临床试验ID:NCT02915445),初步观察到了EpCAM CAR-T回输后安全性较好,代表免疫反应指标的TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP等细胞因子水平逐渐升高。有效性尚需长期随访观察及继续纳入患者后方可得到统计。

### 4.5 其他抗原

间皮素是糖基磷脂酰肌醇锚定的糖蛋白,过表达于恶性间皮瘤、卵巢癌、胰腺癌、非小细胞肺癌等肿瘤,而在胸膜、腹膜等低表达<sup>[49]</sup>。宾夕法尼亚大学<sup>[50-51]</sup>先后报道了靶向间皮素的CAR-T治疗恶性胸膜间皮瘤及转移性胰腺癌的6例患者,均观察到了肿瘤部分缓解或消退的情况,持续时间不长久出现进展,但首次观察到因输注CAR-T引起的过敏反应(ID:NCT01355965)。此外癌/睾丸抗原(NY-ESO-1、MUC-1)、白介素13受体(IL13R $\alpha$ 2)等也作为潜在的优势抗原位点应用于临床,MUC-1 CAR-T应用于转移性精囊癌观察到了肿瘤坏死<sup>[52]</sup>,IL13R $\alpha$ 2 CAR-T应用于1例胶质瘤观察到了CR<sup>[53]</sup>。

## 5 抗原选择面临的挑战与对策

已有研究<sup>[54]</sup>提出,在CAR-T治疗应用中推荐选择的抗原为病毒相关抗原、癌-睾丸抗原、基因突变后

产生的新抗原。本文总结目前临床应用的靶点发现,选择的抗原几乎都是肿瘤细胞表面糖蛋白,无法满足只在肿瘤中高表达而正常组织不表达的良好抗原选择条件,EGFRvIII即使满足也疗效甚微,肿瘤异质性限制了它完全清除肿瘤的能力,单独针对EGFRvIII导致部分肿瘤逃逸<sup>[36]</sup>。也观察到GD2应用在成神经细胞瘤的疗效优于黑色素瘤<sup>[39-41]</sup>,表明CAR-T的疗效也与抗原选择时所对应的肿瘤类型有关,在比较抗原特异性高低的标准及抗原对肿瘤微环境的影响程度尚缺乏研究证据阐述。

设计以抗原选择为基础的免疫治疗策略,首先要积极寻找特异性抗原,已被证实新抗原是肿瘤免疫的最佳靶点,主要是通过高通量测序方法对肿瘤DNA和正常DNA进行外显子测序从而找到基因突变<sup>[55-56]</sup>,也可提取肿瘤浸润淋巴细胞或肿瘤患者外周血筛选其识别肿瘤的抗原表位并人工合成基因片段组装成CAR-T发挥作用<sup>[57-58]</sup>。其次是合成同时含有多种抗原的CAR-T来克服肿瘤异质性及肿瘤自发免疫耐受,如应用双抗原ErbB2和MUC1、EGFR和EGFRvIII等受体合成CAR-T<sup>[59-60]</sup>;也可采取序贯治疗的“鸡尾酒”疗法,这种方法针对同一胆管癌患者先使用EGFR CAR-T后使用CD133 CAR-T,已证实有效,达13个月的CR<sup>[61]</sup>。最后可将编码表达免疫调节剂、细胞因子的基因连同编码CAR的基因转入CAR-T或基因敲除CAR-T内引起免疫抑制的基因如*PD-1*、*CTLA4*使细胞发挥持续抗肿瘤作用(ID:NCT03182816)。

## 6 结 语

CAR-T在血液肿瘤中的成功让其在扩展到实体瘤的应用中备受期待,实体肿瘤抗原特异性的提高可避免脱靶效应和减轻肿瘤微环境抑制,从而提升安全性和有效性。现有已注册和实施的临床试验发现,实体瘤抗原多是细胞表面糖蛋白,在多种肿瘤和正常组织中均表达,而最具抗原特异性的是基因突变后的新抗原,尚在探索之中。为了得到更优化的抗原靶点,目前主要通过基因测序合成抗原或筛选分离抗原,而随着二代基因测序技术的进步,有望在抗原合成和筛选上取得突破性进展。在抗原选择方面,未来的方向在于探索最优化的抗原或抗原组合和其对应的最适合治疗的实体肿瘤类型,为晚期复发转移难治性患者提供生存希望。除此之外,还需进一步研究CAR-T自身结构设计的优化、如何向肿瘤组织迁移浸润、如何延长体内的持续存在时间和增强细胞扩增等,解决了这些问题,必将提升CAR-T对实体瘤的整体疗效。

## [参 考 文 献]

- [1] SHERIDAN C. First approval in sight for Novartis' CAR-T therapy after panel vote[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(8): 691-693. DOI: 10.1038/nbt0817-691.
- [2] LEE D W, KOCHENDERFER J N, STETLER-STEVENSON M, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial[J]. *Lancet*, 2015, 385(9967): 517-528. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.
- [3] QASIM W, ZHAN H, SAMARASINGHE S, et al. Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(374): eaaj2013 [2017-07-10]. <http://stm.sciencemag.org/content/9/374/eaaj2013.short>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaj2013.
- [4] RAMOS C A, HESLOP H E, BRENNER M K. CAR-T cell therapy for lymphoma[J]. *Annu Rev Med*, 2016, 67: 165-183. DOI: 10.1146/annurev-med-051914-021702.
- [5] ELASQUEZ M P, SZOOR A, VAIDYA A, et al. CD28 and 41BB costimulation enhances the effector function of CD19-specific engager T cells[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2017[2017-8-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28821531>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0171.
- [6] ZHANG L, KERKAR S P, YU Z, et al. Improving adoptive T cell therapy by targeting and controlling IL-12 expression to the tumor environment[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(4): 751-759. DOI: 10.1038/mt.2010.313.
- [7] ESNAK A D, JUNE C H, LEVINE B L. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2016, 16(9): 566-581. DOI: 10.1038/nrc.2016.97.
- [8] RAPONI S, STEFANIA DE PROPRIIS M, INTOPPA S, et al. Flow cytometric study of potential target antigens (CD19, CD20, CD22, CD33) for antibody-based immunotherapy in acute lymphoblastic leukemia: analysis of 552 cases[J]. *Leukemia & Lymphoma*, 2011, 52(6): 1098-1107. DOI: 10.3109/10428194.2011.559668.
- [9] LICHTMAN E I, DOTTI G. Chimeric antigen receptor T-cells for B-cell malignancies[J]. *Transl Res*, 2017, 187: 59-82. DOI: 10.1016/j.trsl.2017.06.011.
- [10] TURTLE C J, HANAFI L A, BERGER C, et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(355): 355ra116. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf8621.
- [11] SHAH N N, STETLER-STEVENSON M, YUAN C M, et al. Minimal residual disease negative complete remissions following anti-CD22 chimeric antigen receptor (CAR) in children and young adults with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia (ALL) [J]. *Blood*, 2016, 128(22): 650. DOI: 10.1182/blood-2016-02-701029.
- [12] WANG Y, ZHANG W Y, HAN Q W, et al. Effective response and delayed toxicities of refractory advanced diffuse large B-cell lymphoma treated by CD20-directed chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. *Clin Immunol*, 2014, 155(2): 160-175. DOI: 10.1016/j.clim.2014.10.002.
- [13] TURTLE C J, HANAFI L A, BERGER C, et al. CD19 CAR-T cells

- of defined CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> composition in adult B cell ALL patients[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6): 2123-2138. DOI:10.1172/JCI85309.
- [14] WANG Z, GUO Y, HAN W. Current status and perspectives of chimeric antigen receptor modified T cells for cancer treatment[J]. *Protein & Cell*, 2017(8 Suppl):1-30. DOI: 10.1007/s13238-017-0400-z.
- [15] 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.
- [16] AHMED N, BRAWLEY V S, HEGDE M, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) -specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of HER2-positive sarcoma[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(15): 1688-1696. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.0225.
- [17] TAKAI K, LE A, WEAVER V M, et al. Targeting the cancer-associated fibroblasts as a treatment in triple-negative breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(50): 82889-82901. DOI: 10.18632/oncotarget.12658.
- [18] CHANG H, JUNG W, KIM A, et al. Expression and prognostic significance of programmed death protein 1 and programmed death ligand-1, and cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 in hepatocellular carcinoma[J]. *APMIS*, 2017, 125(8): 690-698. DOI: 10.1111/apm.12703.
- [19] SUNDSTROM P, STENSTAD H, LANGENES V, et al. Regulatory T cells from colon cancer patients inhibit effector T-cell migration through an adenosine-dependent mechanism[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(3): 183-193. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0050.
- [20] NOMAN M Z, HASMIM M, MESSAI Y, et al. Hypoxia: a key player in antitumor immune response. a review in the theme: cellular responses to hypoxia[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2015, 309(9): C569-C579. DOI: 10.1152/ajpcell.00207.2015.
- [21] ZHANG C, WANG Z, YANG Z, et al. Phase I escalating-dose trial of CAR-T therapy targeting CEA<sup>+</sup> metastatic colorectal cancers[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(5): 1248-1258. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.03.010.
- [22] RESETCA D, NESCHADIM A, MEDIN J A. Engineering hematopoietic cells for cancer immunotherapy: strategies to address safety and toxicity concerns[J]. *J Immunother*, 2016, 39(7): 249-259. DOI: 10.1097/CJI.0000000000000134.
- [23] XU X J, TANG Y M. Cytokine release syndrome in cancer immunotherapy with chimeric antigen receptor engineered T cells[J]. *Cancer Lett*, 2014, 343(2): 172-178. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.10.004.
- [24] 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.
- [25] POLYAK K, WEINBERG R A. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(4): 265-273. DOI:10.1038/nrc2620.
- [26] RUELLA M, KLICHINSKY M, KENDERIAN S S, et al. Overcoming the immunosuppressive tumor microenvironment of hodgkin lymphoma using chimeric antigen receptor T cells[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(10): 1154-1167. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0850.
- [27] JIN L, GE H, LONG Y, et al. CD70, a novel target of CAR-T-cell therapy for gliomas[J]. *Neuro Oncol*, 2017, 20(1): 55-65. DOI: 10.1093/neuonc/nox116.
- [28] SADELAIN M, RIVIERE I, RIDDELL S. Therapeutic T cell engineering[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 423-431. DOI: 10.1038/nature22395.
- [29] DOBRENKOV K, CHEUNG N K. GD2-targeted immunotherapy and radioimmunotherapy[J]. *Semin Oncol*, 2014, 41(5): 589-612. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2014.07.003.
- [30] FLEURENCE J, FOUGERAY S, BAHRI M, et al. Targeting O-acetyl-GD2 ganglioside for cancer immunotherapy[J/OL]. *J Immunol Res*, 2017(6): 5604891[2017-07-10]. <https://www.hindawi.com/journals/jir/2017/5604891/>. DOI: 10.1155/2017/5604891.
- [31] CREANEY J, SNEDDON S, DICK I M, et al. Comparison of the diagnostic accuracy of the MSLN gene products, mesothelin and megakaryocyte potentiating factor, as biomarkers for mesothelioma in pleural effusions and serum[J]. *Dis Markers*, 2013, 35(2): 119-127. DOI: 10.1155/2013/874212.
- [32] FILMUS J, CAPURRO M. Glypican-3: a marker and a therapeutic target in hepatocellular carcinoma[J]. *FEBS J*, 2013, 280(10): 2471-2476. DOI: 10.1111/febs.12126.
- [33] SASADA T, AZUMA K, OHTAKE J, et al. Immune responses to epidermal growth factor receptor (EGFR) and their application for cancer treatment[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 405[2017-07-10]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2016.00405/full>. DOI: 10.3389/fphar.2016.00405.
- [34] YANG J, YAN J, LIU B. Targeting EGFRvIII for glioblastoma multiforme[J/OL]. *Cancer Lett*, 2017, 403: 224-230[2017-07-10]. [http://www.cancerletters.info/article/S0304-3835\(17\)30406-8/fulltext](http://www.cancerletters.info/article/S0304-3835(17)30406-8/fulltext). DOI: 10.1016/j.canlet.2017.06.024.
- [35] MORGAN R A, JOHNSON L A, DAVIS J L, et al. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRvIII and development of adoptive cell therapy for glioma[J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23(10): 1043-1053. DOI: 10.1089/hum.2012.041.
- [36] JOHNSON L A, SCHOLLER J, OHKURI T, et al. Rational development and characterization of humanized anti-EGFR variant III chimeric antigen receptor T cells for glioblastoma[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(275): 275ra22. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa4963.
- [37] FENG K, GUO Y, DAI H, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of patients with EGFR-expressing advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer[J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 59(5): 468-479. DOI: 10.1007/s11427-016-5023-8.
- [38] O'ROURKE D M, NASRALLAH M P, DESAI A, et al. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(399): eaaa0984 [2017-07-10]. <http://stm.sciencemag.org/content/9/399/eaab0984>. short. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa0984.
- [39] 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]. *Nat Med*, 2008, 14(11): 1264-1270. DOI: 10.1038/nm.1882.
- [40] 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.
- [41] GARGETT T, YU W, DOTTI G, et al. GD2-specific CAR T cells

- undergo potent activation and deletion following antigen encounter but can be protected from activation-induced cell death by PD-1 blockade[J]. *Mol Ther*, 2016, 24(6): 1135-1149. DOI: 10.1038/mt.2016.63.
- [42] HECZEY A, LOUIS C U, SAVOLDO B, et al. CAR T cells administered in combination with lymphodepletion and PD-1 inhibition to patients with neuroblastoma[J/OL]. *Mol Ther*, 2017, 25(9): 2214-2224 [2017-06-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28602436>. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.05.012.
- [43] WANG W, SEERUTTUN S R, FANG C, et al. Prognostic significance of carcinoembryonic antigen staining in cancer tissues of gastric cancer patients[J]. *Ann Surg Oncol*, 2016, 23(4): 1244-1251. DOI: 10.1245/s10434-015-4981-6.
- [44] SAGI-DAIN L, LAVIE O, AUSLANDER R, et al. CEA in evaluation of adnexal mass: retrospective cohort analysis and review of the literature[J/OL]. *Int J Biol Markers*, 2015, 30(4): e394-e400 [2017-06-09]. [http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.5301/ijbm.5000158?url\\_ver=Z39.88-2003&rft\\_id=ori:rid:crossref.org&rft\\_dat=cr\\_pub%3dpubmed](http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.5301/ijbm.5000158?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%3dpubmed). DOI: 10.5301/ijbm.5000158.
- [45] 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<sup>+</sup> liver metastases[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(14): 3149-3159. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1421.
- [46] SEN S, CARNELIO S. Expression of epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) in oral squamous cell carcinoma[J]. *Histopathology*, 2016, 68(6): 897-904. DOI: 10.1111/his.12870.
- [47] SADEGHI S, HOJATI Z, TABATABAEIAN H. Cooverexpression of EpCAM and c-myc genes in malignant breast tumours[J]. *J Genet*, 2017, 96(1): 109-118. DOI: 10.1007/s12041-017-0748-0.
- [48] NIO K, YAMASHITA T, OKADA H, et al. Defeating EpCAM(+) liver cancer stem cells by targeting chromatin remodeling enzyme CHD4 in human hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2015, 63(5): 1164-1172. DOI: 10.1016/j.jhep.2015.06.009.
- [49] O'HARA M, STASHWICK C, HAAS A R, et al. Mesothelin as a target for chimeric antigen receptor-modified T cells as anticancer therapy[J]. *Immunotherapy*, 2016, 8(4): 449-460. DOI: 10.2217/imt.16.4.
- [50] MAUS M V, HAAS A R, BEATTY G L, et al. T cells expressing chimeric antigen receptors can cause anaphylaxis in humans[J]. *Cancer Immunol Res*, 2013, 1(1): 26-31. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0006.
- [51] BEATTY G L, HAAS A R, MAUS M V, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce anti-tumor activity in solid malignancies[J]. *Cancer Immunol Res*, 2014, 2(2): 112-120. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0170.
- [52] YOU F, JIANG L, ZHANG B, et al. Phase I clinical trial demon-
- strated that MUC1 positive metastatic seminal vesicle cancer can be effectively eradicated by modified Anti-MUC1 chimeric antigen receptor transduced T cells[J]. *Sci China Life Sci*, 2016, 59(4): 386-397. DOI: 10.1007/s11427-016-5024-7.
- [53] 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.
- [54] SALMANINEJAD A, ZAMANI M R, POURVAHEDI M, et al. Cancer/testis antigens: Expression, regulation, tumor invasion, and use in immunotherapy of cancers[J]. *Immunol Invest*, 2016, 45(7): 619-640. DOI: 10.1080/08820139.2016.1197241.
- [55] ROBBINS P F, LU Y C, EL-GAMIL M, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells[J]. *Nat Med*, 2013, 19(6): 747-752. DOI: 10.1038/nm.3161.
- [56] KALAORA S, BARNEA E, MERHAVI-SHOHAM E, et al. Use of HLA peptidomics and whole exome sequencing to identify human immunogenic neo-antigens[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 5110-5117. DOI: 10.18632/oncotarget.6960.
- [57] GROS A, PARKHURST M R, TRAN E, et al. Prospective identification of neoantigen-specific lymphocytes in the peripheral blood of melanoma patients[J]. *Nat Med*, 2016, 22(4): 433-438. DOI: 10.1038/nm.4051.
- [58] LINNEMANN C, VAN BUUREN M M, BIES L, et al. High-throughput epitope discovery reveals frequent recognition of neo-antigens by CD4<sup>+</sup> T cells in human melanoma[J]. *Nat Med*, 2015, 21(1): 81-85. DOI: 10.1038/nm.3773.
- [59] 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.
- [60] GENSSLER S, BURGER M C, ZHANG C, et al. Dual targeting of glioblastoma with chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells overcomes heterogeneity of target antigen expression and enhances antitumor activity and survival[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1119354 [2017-07-10]. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2015.1119354>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1119354.
- [61] FENG K C, GUO Y L, LIU Y, et al. Cocktail treatment with EGFR-specific and CD133-specific chimeric antigen receptor-modified T cells in a patient with advanced cholangiocarcinoma[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 4. <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-016-0378-7>. DOI: 10.1186/s13045-016-0378-7.

[收稿日期] 2017-10-09

[修回日期] 2018-02-25

[本文编辑] 黄静怡