

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.12.016

· 综述 ·

## CAR-T细胞治疗肿瘤后复发的机制

### Mechanisms of relapse after the CAR-T cell therapy

沈琦<sup>a</sup>综述; 虞淦军<sup>b</sup>审阅(海军军医大学 基础医学院 a. 临床医学专业; b. 免疫学研究所, 上海 200433)

**[摘要]** 嵌合抗原受体基因修饰T淋巴细胞(chimeric antigen receptor gene modified-T lymphocytes, CAR-T)疗法是主要应用于血液肿瘤和多种实体瘤的一种治疗方法。尽管其临床疗效良好,有巨大的应用潜力和发展前景,但接受CAR-T细胞治疗后获得缓解的大部分患者病情会再次复发。近年来,随着CAR-T细胞疗法的不断探索,探明了越来越多的复发机制,主要为CAR-T细胞体内持久性有限,靶抗原丢失和调变等。本文结合近年来发表文献对CAR-T细胞治疗后复发的机制进行详解,并从CAR设计、T细胞亚型选择、CAR-T细胞制备、CAR-T细胞质控以及CAR-T细胞应用全链条的关注和管理对其应对策略进行总结。

**[关键词]** CAR-T细胞; 肿瘤; 细胞治疗; 复发; 机制

**[中图分类号]** R730.51; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)12-1411-05

嵌合抗原受体基因修饰T淋巴细胞(chimeric antigen receptor gene modified-T lymphocytes, CAR-T)疗法是通过构建特异性嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR),经慢病毒或电穿孔等基因转导方法使T淋巴细胞表达CAR,然后将这些细胞进行体外扩增,继而回输给患者的一种治疗方法<sup>[1]</sup>。目前, CAR-T细胞治疗的适应症除了B细胞性白血病、多发性骨髓瘤等多种血液肿瘤,还有骨肉瘤、恶性黑色素瘤、结肠癌、成神经细胞瘤和肝癌等多种实体瘤。选择合适的靶标分子是CAR-T细胞治疗的关键,理想的靶标应在肿瘤细胞上有足够的覆盖率且在肿瘤细胞中呈高表达,同时在正常组织细胞中低表达甚至不表达,以确保治疗的有效性和安全性。目前已报道的主要靶标有CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD38和CD123等<sup>[2]</sup>。由于CD19仅表达于各分化阶段的正常及恶性的B细胞,而在其他非B细胞表面不表达,因而CD19-CAR-T细胞被用于急性B淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)等恶性B细胞肿瘤的治疗<sup>[3]</sup>,目前相关的临床研究最多、技术最成熟<sup>[4-6]</sup>。

CD19-CAR-T细胞的临床报道最先来自于斯隆·凯特琳纪念癌症中心(Memorial Sloan Kettering Cancer Center, MSKCC)的I期临床试验,接着相继在美国国家癌症研究所(national cancer institute, NCI)和宾夕法尼亚大学(University of Pennsylvania, UPenn)开展。MSKCC报道了难治复发急性淋巴细胞白血病的完全缓解(complete remission, CR)率为83%<sup>[7]</sup>,疗效明显优于化疗。目前已有tisagenlecleucel(商品名:Kymriah)和KTE-C19(商品名:Yescarta)两款产品上市,在肿瘤免疫治疗中发挥着重要作用。

CAR-T细胞治疗表现出了良好的临床疗效,展示了巨大的应用潜力和发展前景,但也面临诸多挑战<sup>[5]</sup>。接受CD19-CAR-T细胞治疗后获得缓解的患者中,约30%~50%病情会复发,且复发大多发生在接受治疗1年内<sup>[8]</sup>,其复发机制复杂且多样,本文就这一新兴免疫疗法的复发机制进行探讨,为更加充分地利用CAR-T细胞疗法的抗癌潜能提供新的思路。

### 1 复发机制

进一步了解CAR-T细胞治疗后复发背后的机制,鉴定出复发可能性高的患者,对优化CAR-T细胞治疗至关重要。研究<sup>[9]</sup>显示,在接受抗CD19或抗CD22的CAR-T细胞治疗后,多达50%的pre-B细胞ALL患者在回输12个月内会以两种主要的模式复发:(1)抗原阳性白血病的早期复发;(2)与抗原丢失相关的晚期复发。

#### 1.1 抗原阳性复发

抗原阳性复发的原因主要是CAR-T细胞在患者体内持久性有限,导致患者体内CAR-T细胞减少或者消失<sup>[9]</sup>,通常在成功诱导缓解后的最初几个月内,便出现抗原阳性的肿瘤细胞的复发。美国拉霍亚免疫学研究所的CHEN等<sup>[10]</sup>的研究结果显示,T细胞长期暴露在肿瘤抗原下将进入耗竭状态,耗竭的T细胞功能低下并持续高表达免疫抑制性受体TIM-3和

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(No. 81901686)。Project supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (No. 81901686)

**[作者简介]** 沈琦(1999-),本科生,临床医学专业, E-mail: 735644733@qq.com

**[通信作者]** 虞淦军(YU Ganjun, corresponding author),博士,讲师,主要从事肿瘤免疫治疗的研究, E-mail: yugj@immunol.org

PD-1, 从而导致T细胞无法杀灭肿瘤细胞。CAR-T细胞持久性的决定性因素仍有待确定, 除了固有的T细胞质量以及最初的T细胞表型(包括CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞的比例), 还包括CAR结构中的共刺激域。临床前研究和临床试验<sup>[6]</sup>数据表明, 包含CD28共刺激域的CAR-T细胞的持久性逊于包含4-1BB共刺激域的CAR-T细胞。Kymriah的一项关键临床试验<sup>[4]</sup>结果显示, 基于4-1BB的CAR-T细胞在血液中的中位持续时间为168天, 而基于CD28的CAR-T细胞中位持续时间仅为30天, 这些细胞在3个月以后很少被检测到。除上述提到的因素外, 由于大部分临床研究应用的CD19-CAR-T细胞均是采用鼠源的单链可变区(scFv), 这也可能是患者体内CAR-T细胞丢失, 导致复发的原因之一<sup>[11-13]</sup>, 临床试验已证实鼠源性CAR序列的免疫原性可导致抗CD19 CAR-T细胞在体内无法持续存活<sup>[4]</sup>, 通过将鼠源scFv换为人源scFv, 降低CAR-T细胞免疫原性, 可能增加其持续性<sup>[15]</sup>。因此, 针对抗原阳性复发的机制, 在CAR-T细胞设计早期就应该将共刺激域、细胞质量、表型等因素考虑在内。

## 1.2 抗原丢失或调变

靶抗原调变是CAR-T细胞诱导缓解后疾病复发最清晰的机制之一。这也是其它肿瘤免疫疗法的共性问题之一。对实体瘤的临床前研究以及对成胶质细胞瘤患者的临床研究<sup>[16]</sup>结果表明, 抗原调变是破坏CAR-T细胞治疗有效性的一个潜在“陷阱”。

选择性剪接是导致CD19表达缺失的明确机制之一<sup>[17-18]</sup>, 这种剪切产生的CD19变体靶表位被破坏和/或在细胞表面表达减少, 同时停止了CD19向细胞表面的转运。有效CAR-T细胞治疗后的抗原丢失在ALL患者中得到了有力证实。在重庆市CAR-T细胞治疗首例ALL患者中<sup>[9]</sup>, 60岁女性患者输注培养后的CD19 CAR-T细胞( $1 \times 10^6/\text{kg}$ ), 输注30天后骨髓细胞学检查示CR、微小残留病阴性。第60天骨髓检查发现白血病复发, 流式免疫分型提示白血病细胞不表达CD19。通常60%的ALL复发都表现出癌细胞不表达CD19的情况, 但这种现象并不局限于这类癌症。

关于CAR-T细胞治疗复发性、多灶性成胶质细胞瘤患者的研究<sup>[20]</sup>结果显示, 患者在接受包括IL13BB $\zeta$ -CAR-T细胞疗法的治疗后, 观察到所有颅内和脊柱肿瘤的消退, 以及脑脊液中细胞因子和免疫细胞水平的相应增加。在CAR-T细胞治疗结束后, 该临床反应持续了7.5个月。在第一次CAR-T细胞治疗后228天出现了肿瘤复发, 初步检查结果表明IL13R $\alpha$ 2的表达下降。尽管已经了解到抗原调变是

免疫逃逸的一种机制, 但目前还没有足够的能力预测哪些患者会因为这类机制导致疾病复发。

关于CAR-T细胞治疗非霍奇金淋巴瘤(non-hodgkin's lymphoma, NHL)的研究<sup>[21]</sup>结果显示, ZUMA-1临床研究纳入111例NHL患者, 11例患者的病理活组织检查显示, 其中3例患者接受以CD3 $\zeta$ /CD28为基础的抗CD19 CAR-T细胞疗法后出现CD19抗原丢失<sup>[22]</sup>。BUKHARI等<sup>[23]</sup>的研究中, 2例弥漫大B细胞性淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)患者CAR-T细胞治疗后复发均显示CD19抗原丢失或不伴免疫逃逸。

## 1.3 癌细胞的胞吞作用(trogocytosis)

胞吞作用是指淋巴细胞通过免疫突触, 从抗原提呈细胞上获取一部分表面分子。美国MSKCC的HAMIEH等<sup>[23]</sup>发现, 癌细胞可经胞吞作用将靶抗原转移至CAR-T细胞, 完成免疫逃逸, 将自己隐藏起来的同时引起CAR-T细胞间互相攻击。

该团队为急性淋巴细胞白血病模型小鼠输注一定量的CD19-CAR-T细胞进行治疗, 模拟CAR-T细胞的治疗后复发过程。2周后, 小鼠体内输注的CAR-T细胞消耗殆尽, 接受治疗的小鼠癌细胞上CD19的表达量从原来的11 000个/细胞降至4 500个/细胞。为探寻减少的CD19的去向, 研究人员在体外将癌细胞与CD19-CAR-T细胞共培养, 结果显示, 仅仅1小时后, 癌细胞上的CD19就大幅下降了, 而在CD19-CAR-T细胞上却表达了大量的CD19。为验证CD19-CAR-T细胞上出现的CD19的来源, 该团队给癌细胞的CD19分子锚上了荧光标签, 经1小时体外共培养后, CAR-T细胞表面出现了带荧光标签的CD19, 证明癌细胞可将自身抗原转移至CAR-T细胞。进一步研究发现, 只有具有胞吞能力的CAR-T细胞才会接受癌细胞上的靶抗原。

胞吞作用在免疫应答过程中的作用尚不十分明确, 可能在免疫反应的诱导和调节中发挥重要作用, 但在CAR-T细胞治疗过程中, 却成为了对抗免疫治疗的罪魁祸首。

## 1.4 CAR-癌细胞

宾夕法尼亚大学RUELLA教授带领的团队<sup>[24]</sup>发现一例CAR-T细胞治疗的特殊病例: 一名患者体内携带有CARs白血病细胞(CAR-癌细胞), 正是这个细胞导致患者在接受CAR-T细胞治疗后出现了复发。

研究人员将制备好的CAR-T细胞输注给一名ALL患者后, 患者病情得到了CR, 但在治疗9个月后又复发, 最终死于与白血病相关的并发症。在这一病例中, 研究人员在患者体内并未检测到CD19, 但发

现白血病细胞对CAR蛋白呈阳性反应。进一步研究发现,复发的白血病细胞全部都携带着CAR,而且携带CAR的癌变细胞都是同一来源。原因可能是,在制备CAR-T细胞时原本应该修饰T细胞的CAR与白血病细胞结合,这个CAR-癌细胞在患者体内复制,最终引发ALL复发。他们分析,白血病细胞上的CAR可能会让癌细胞有能力掩盖CD19蛋白,从而逃避免疫治疗。此外,缺少CD19蛋白的白血病细胞会对CAR-T细胞治疗表现出抗性。这一病例的出现给CAR-T细胞的制备和质控再次敲响了警钟,提出了更高的要求。

### 1.5 其它机制

CAR-T细胞疗法自1989年初次提出以来,在血液肿瘤治疗领域已取得了明显疗效。然而,其多样的复发机制仍是研究者必须面临的挑战。CAR-T细胞疗法在实体瘤治疗方面取得了一定的进展,但由于肿瘤的异质性使CAR-T细胞治疗不能靶向全部肿瘤细胞,致使肿瘤出现选择性逃逸及治疗后复发等原因,仍缺乏实质性的进展。另外,谱系转换是肿瘤细胞逃避CAR-T细胞杀伤的另一种机制<sup>[6]</sup>。举例来说,在临床前ALL模型中用CAR-T细胞靶向FLT3被发现诱导了B细胞向T细胞谱系的可逆转换<sup>[6]</sup>。不过,这种耐药机制在非白血病恶性肿瘤中是否起作用仍有待确定。

## 2 应对策略

### 2.1 化疗药物预处理

针对抗原阳性复发机制,研究报道CD19-CAR-T细胞治疗前采用5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine)、依鲁替尼(ibrutinib)、氟达拉滨(fludarabine)、环磷酰胺(cyclophosphamide)等化疗药物<sup>[25-26]</sup>及双特异性抗体<sup>[27]</sup>(blinatumomab)预处理,可以增加CAR-T细胞的体内持续性及其抗肿瘤效应。

### 2.2 优化CAR的结构和功能

在CAR设计之初,就应当充分考虑到scFv来源、共刺激域、细胞亚型等因素,充分优化CAR-T细胞的结构和功能。基因编辑技术的进步可能对这方面的研究发挥帮助,一些研究表明,将CAR序列整合到特殊的基因(如TET2<sup>[28]</sup>、TRAC<sup>[29]</sup>)中也有助增强CAR-T细胞的持久性或抗肿瘤效应。

### 2.3 提高T细胞体内存活时间

寻找T细胞效应、耗竭或记忆等相关的基因,靶向特定基因进行干预,延长T细胞在体内的存活时间和效应时间。例如,美国拉霍亚免疫学研究所KOCHENDERFER教授团队<sup>[3]</sup>还对防止T细胞耗竭进行了探索。Nr4a转录因子在调节T细胞衰竭中发

挥着关键的作用,其制备了两种CAR-T细胞: Nr4a<sup>-/-</sup>CAR-T细胞和Nr4a<sup>+/+</sup>CAR-T细胞,将其分别输入荷瘤小鼠体内,观察其抗肿瘤效果。结果显示, Nr4a<sup>-/-</sup>CAR-T细胞治疗的肿瘤小鼠生存期约90天,且小鼠体内的肿瘤被遏制且不断缩小;而Nr4a<sup>+/+</sup>CAR-T细胞治疗组小鼠大多数在35天左右死亡。结果表明,敲除CAR-T细胞的Nr4a基因可有效避免T细胞耗竭的发生。

### 2.4 应用多靶点CAR-T细胞治疗

针对抗原丢失或调变,基于CD19抗原丢失或CD19肿瘤免疫治疗后的下调和细胞表面CD22表达减少导致CAR细胞治疗后复发的明确证据,研究人员<sup>[30]</sup>建议,同时或序贯对多种抗原进行靶向治疗可以减少肿瘤通过抗原丢失逃逸的可能性。目前,科学家们正在开发靶向多抗原的CAR结构,如CD19-CD20-CAR<sup>[31]</sup>、CD19-CD123-CAR<sup>[32]</sup>、CD19-CD22-CAR<sup>[33]</sup>,以解决肿瘤固有的异质性,从而降低白血病复发的风险。JIA等<sup>[34]</sup>治疗了一例在半相合造血干细胞移植后复发和难治性B-ALL的成人患者,通过在预备性淋巴耗竭化疗后注射针对CD19和CD22的单倍体相合的CAR-T细胞。患者在输注后第14天达到CR,28天达到微小残留病灶完全缓解(minimal residual disease complete remission, MRD-CR)。截至2019年3月28日,该患者MRD-CR已超过14个月,并逐渐停止了移植物抗宿主病预防。这项研究证实了同时靶向CD19和CD22的CAR具有诱导B-ALL患者长期缓解的潜力。

针对癌细胞的胞啃作用,采取多靶点CAR-T细胞治疗能够有效避免癌细胞通过胞啃作用发生的免疫逃逸,从而防止肿瘤的复发。

### 2.5 与其他疗法联用

肿瘤及其微环境在发生发展过程中,形成了抗肿瘤和肿瘤逃逸的一个平衡状态,其中有阳性的抗肿瘤免疫应答反应,也有阴性的免疫抑制调控<sup>[35]</sup>。因此,肿瘤的治疗需要多种方式的联合与协同。CAR-T细胞虽然具有特异性杀伤作用,但是进入肿瘤微环境后,常常被各类免疫抑制因素如细胞因子、PD-1/PD-L1信号通路等抑制,其功能也会被逐渐“耗竭”。而PD-1单抗为代表的免疫检查点抑制剂正好可以逆转这一过程<sup>[36]</sup>,使耗竭的T细胞重新激活发挥作用。2017年美国血液病协会(American Society of Hematology, ASH)年会上报告<sup>[37]</sup>,使用CD19 CAR-T细胞联合派姆单抗(PD-1单抗)治疗弥漫大B细胞淋巴瘤患者后发现,所有接受CAR-T细胞治疗后首次应用派姆单抗的患者均出现了CAR-T细胞的快速增殖(高峰),其中有应答者出现多个高峰,而无应答者

仅在首次应用派姆单抗后出现CAR-T细胞增殖速度的上升,其具体机制尚不清楚。还有研究者应用CAR-T细胞与CTLA-4<sup>[38]</sup>、TIM-3<sup>[39]</sup>等其他免疫检查点抑制剂联合治疗,也发现免疫检查点抑制剂可以提高CAR-T细胞的疗效。

除此之外,CAR已经被构建在肿瘤微环境中共表达提高CAR-T细胞功能的因子。CAR-T细胞经修饰后,能够分泌PD-1阻断ScFv,以旁分泌和自分泌方式发挥作用,提高CAR-T细胞抗肿瘤活性,其疗效与CAR-T细胞联合检查点抑制剂的治疗方法相似或更好<sup>[40]</sup>。这种方法可以提高安全性,因为分泌的单链抗体仍然定位于肿瘤,保护CAR-T细胞免受PD-1抑制,这可能会避免与系统性检查点抑制相关的毒性。

CAR-T细胞需要识别肿瘤抗原,因此必须克服实体肿瘤的物理障碍浸润到肿瘤局部才能发挥作用。因此,突破肿瘤微环境的抑制,促进CAR-T细胞向肿瘤局部的浸润,可以显著提高CAR-T细胞的疗效。溶瘤病毒(oncolytic virus,OV)可以重塑局部肿瘤微环境,提高T细胞募集和效应功能;OV与CAR-T细胞治疗联合的策略可以改善实体肿瘤的治疗效果。研究人员<sup>[41]</sup>已经在胰腺癌的同基因小鼠模型中证实,抗间皮素CAR-T细胞联合同时表达肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )和白细胞介素2(IL-2)的溶瘤腺病毒,可以显著增加瘤内T细胞浸润数量,优效抑制肿瘤生长,延长小鼠生存期。这说明OV与CAR-T细胞相结合的策略在小鼠模型的治疗中是有利的,可以更有效地抑制肿瘤发展。目前对这一策略的探索尚只是在小鼠模型中开展,更多的临床数据有待进一步的收集和验证。

### 3 总结与展望

综上所述,CAR-T细胞治疗后复发的机制主要为CAR-T细胞体内持久性有限、靶抗原丢失或调变等。CAR-T细胞疗法是目前为止最有前途的抗癌疗法之一,但想要充分发挥其潜力,使接受这类疗法的患者获得安全持久的缓解仍需要克服很多障碍。解决CAR-T细胞治疗后的复发问题需要从CAR的设计、T细胞亚型选择、CAR-T细胞制备、CAR-T细胞质控以及CAR-T细胞应用等方面进行全链条的关注和管理。只有解决了复发问题,那些接受治疗后缓解的患者才能真正的算是治愈。随着对复发机制的不断研究,相信这个问题会逐渐得到解决,给患者带去真正的福音。

### [参考文献]

[1] BRENTJENS R J, RIVIÈRE 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 leukemias[J]. *Blood*, 2011, 118(18): 4817-4828. DOI: 10.1182/blood-2011-04-348540.

- [2] ARABI F, TORABI-RAHVAR M, SHARIATI A, et al. Antigenic targets of CAR T Cell therapy. A retrospective view on clinical trials[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 369(1): 1-10. DOI:10.1016/j.yexcr.2018.05.009.
- [3] KOCHENDERFER J N, ROSENBERG S A. Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(5): 267-276. DOI: 10.1038/nrclinonc.2013.46.
- [4] RIET T, ABKEN H. Chimeric antigen receptor T cells: power tools to wipe out leukemia and lymphoma[J]. *Expert Rev Hematol*, 2015, 8(4): 383-385. DOI:10.1586/17474086.2015.1043884.
- [5] GARDNER R A, FINNEY O, ANNESLEY C, et al. Intent-to-treat leukemia remission by CD19 CAR T cells of defined formulation and dose in children and young adults[J]. *Blood*, 2017, 129(25): 3322-3331. DOI:10.1182/blood-2017-02-769208.
- [6] 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.
- [7] PARK J H, RIVIÈRE I, GONEN M, et al. Long-term follow-up of CD19 CAR therapy in acute lymphoblastic leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5): 449-459. DOI:10.1056/nejmoa1709919.
- [8] SHAH N N, FRY T J. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(6): 372-385. DOI:10.1038/s41571-019-0184-6.
- [9] MAJZNER R G, MACKALL C L. Tumor antigen escape from CAR T-cell therapy[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(10): 1219-1226. DOI: 10.1158/2159-8290.cd-18-0442.
- [10] CHEN J, LÓPEZ-MOYADO I F, SEO H, et al. NR4A transcription factors limit CAR T cell function in solid tumours[J]. *Nature*, 2019, 567(7749): 530-534. DOI:10.1038/s41586-019-0985-x.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] CAO J, WANG G, CHENG H, et al. Potent anti-leukemia activities of humanized CD19-targeted Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia[J]. *Am J Hematol*, 2018, 93(7): 851-858. DOI: 10.1002/ajh.25108.
- [15] 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.
- [16] SHAH N N, MAATMAN T, HARI P, et al. Multi targeted CAR-T cell therapies for B-cell malignancies[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 146. DOI:10.3389/fonc.2019.00146.
- [17] ASNANI M, HAYER K E, NAQVI A S, et al. Retention of CD19

- intron 2 contributes to CART-19 resistance in leukemias with subclonal frameshift mutations in CD19[J]. *Leukemia*, 2020, 34(4): 1202-1207. DOI:10.1038/s41375-019-0580-z.
- [18] SOTILLO E, BARRETT D M, BLACK K L, et al. Convergence of acquired mutations and alternative splicing of CD19 enables resistance to CART-19 immunotherapy[J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(12): 1282-1295. DOI:10.1158/2159-8290.cd-15-1020.
- [19] 曾韞璟, 高力, 张曦, 等. 重庆市首例CAR-T细胞治疗难治性急性B淋巴细胞白血病并文献复习[J]. *重庆医学*, 2017, 46(6): 834-836. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.06.037.
- [20] 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.
- [21] BUKHARI A, EL CHAER F, KOKA R, et al. Rapid relapse of large B-cell lymphoma after CD19 directed CAR-T-cell therapy due to CD-19 antigen loss[J]. *Am J Hematol*, 2019, 94(10): E273-E275. DOI:10.1002/ajh.25591.
- [22] LOCKE F L, GHOBADI A, JACOBSON C A, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(1): 31-42. DOI:10.1016/s1470-2045(18)30864-7.
- [23] HAMIEH M, DOBRIN A, CABRIOLU A, et al. CAR T cell trogocytosis and cooperative killing regulate tumour antigen escape [J]. *Nature*, 2019, 568(7750): 112-116. DOI: 10.1038/s41586-019-1054-1.
- [24] 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.
- [25] FRAIETTA J A, BECKWITH K A, PATEL P R, et al. Ibrutinib enhances chimeric antigen receptor T-cell engraftment and efficacy in leukemia[J]. *Blood*, 2016, 127(9): 1117-1127. DOI: 10.1182/blood-2015-11-679134.
- [26] DOLNIKOV A, SHEN S, KLAMER G, et al. Antileukemic potency of CD19-specific T cells against chemoresistant pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. *Exp Hematol*, 2015, 43(12): 1001-1014. e5. DOI:10.1016/j.exphem.2015.08.006.
- [27] FREY N V, PORTER D L. Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia[J]. *Hematology*, 2016, 2016(1): 567-572. DOI:10.1182/asheducation-2016.1.567.
- [28] FRAIETTA J A, NOBLES C L, SAMMONS M A, et al. Disruption of TET2 promotes the therapeutic efficacy of CD19-targeted T cells [J]. *Nature*, 2018, 558(7709): 307-312. DOI: 10.1038/s41586-018-0178-z.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] RUELLA M, BARRETT D M, KENDERIAN S S, et al. Dual CD19 and CD123 targeting prevents antigen-loss relapses after CD19-directed immunotherapies[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(10): 3814-3826. DOI:10.1172/jci87366.
- [33] QIN H, RAMAKRISHNA S, NGUYEN S, et al. Preclinical development of bivalent chimeric antigen receptors targeting both CD19 and CD22[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2018, 11: 127-137. DOI: 10.1016/j.omto.2018.10.006.
- [34] JIA H, WANG Z, WANG Y, et al. Haploidentical CD19/CD22 bispecific CAR-T cells induced MRD-negative remission in a patient with relapsed and refractory adult B-ALL after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 57. DOI: 10.1186/s13045-019-0741-6.
- [35] YAN Z X, LI L, WANG W, et al. Clinical efficacy and tumor microenvironment influence in a dose-escalation study of anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(23): 6995-7003. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-19-0101.
- [36] ABRAMSON J S, LUNNING M, PALOMBA M L. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for aggressive B-cell lymphomas: current and future state of the art[J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2019, 39: 446-453. DOI:10.1200/edbk\_238693.
- [37] 曹雅青, 金鑫, 隋松男. 嵌合抗原受体T细胞联合免疫检查点抑制剂治疗恶性肿瘤的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2018, 45(9): 472-476. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2018.09.113.
- [38] 郭振红, 曹雪涛. 肿瘤免疫细胞治疗的现状及展望[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(2): 149-160. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.001.
- [39] KENDERIAN S S, RUELLA M, SHESTOVA O, et al. Identification of PD1 and TIM3 as checkpoints that limit chimeric antigen receptor T cell efficacy in leukemia[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016, 22(3): S19-S21. DOI:10.1016/j.bbmt.2015.11.291.
- [40] 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.
- [41] 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.

[收稿日期] 2020-02-15

[修回日期] 2020-08-03

[本文编辑] 黄静怡