

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.03.011

· 综述 ·

基于合成生物学的CAR-T细胞治疗实体肿瘤的研究进展

Research progress of synthetic biology-based CAR-T cell therapy for solid tumors

史天宇 综述;孟凡岩 审阅(1. 南京中医药大学中西医结合鼓楼临床医学院 肿瘤中心,江苏 南京 210008; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院 肿瘤中心,江苏 南京 210008)

[摘要] 合成生物学借助工程化技术在人工生物系统的设计与构建方面已经取得了长足进展,尤其在CAR-T细胞的开发和应用中为实体肿瘤治疗带来了深刻变革。在合成生物学技术的支持下,新一代的CAR-T细胞可以在靶向肿瘤后激活细胞因子释放通路,实现CAR-T细胞在肿瘤部位的自我调节;工程化的T细胞在CAR的基础上也可以表达其他受体元件(如正交型IL-2、IL-9受体等),通过人工给药干预可在体内实现多功效、特异性刺激,这对于实现CAR-T细胞在体内的精准刺激和克服抑制性肿瘤微环境等意义非凡。此外,智能化CAR回路系统如synNotch基因回路系统和CAR开关系统等研究结果表明,CAR-T细胞可以通过自身基因回路的反馈或人工给药干预来发挥或终止杀伤功能,可有效保证CAR-T细胞在治疗过程中的安全性。虽然针对实体肿瘤靶点难题的CAR-T细胞开发目前尚未有突破性进展,但对于有明确靶点的肿瘤,I期临床试验结果已经显示CAR-T细胞治疗实体肿瘤具有巨大潜力。因此,明确当下CAR-T细胞治疗实体肿瘤的作用机制和应用现状,可以对后续开发高效低毒CAR-T细胞提供新思路。

[关键词] 合成生物学;免疫疗法;CAR-T细胞;实体肿瘤;肿瘤微环境

[中图分类号] R730.51;Q819 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)03-0261-06

CAR-T细胞疗法作为临床上最有前景的肿瘤治疗方法之一,其原理就是利用基因工程技术对患者的T淋巴细胞进行工程化改造,以让其表达嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)。而全新的CAR结构赋予了T淋巴细胞重定向功能,以识别和消除表达肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAA)的肿瘤细胞^[1]。基本的CAR结构包括TAA结合结构域、细胞外铰链结构域、穿膜结构域和细胞内信号结构域^[2]。第一代CAR介导的T细胞活化是通过CD3 ζ 链或Fc ϵ RI γ 上的酪氨酸活化基序完成的;第二与第三代CAR-T细胞都是在初代CAR-T细胞中CD3 ζ 信号结构域的基础上加入了CD28或4-1BB等共刺激结构域,以增强其回输后的持久性和增殖能力;第四代CAR-T细胞则是在前三代的基础上,又加入表达并释放免疫调节分子策略,以达到重塑肿瘤微环境(TME)、逆转回输后CAR-T细胞衰竭等目的^[3-4]。

目前CAR-T细胞疗法在血液系统恶性肿瘤治疗中显示出良好的疗效,然而在实体肿瘤治疗中存在缺乏理想的肿瘤抗原靶点、靶外相互作用和细胞因子风暴导致的严重毒性,以及肿瘤介导的免疫抑制等挑战,阻碍着CAR-T细胞疗法的广泛使用。CAR-T细胞的设计仍需要继续完善,以实现更精准的肿瘤识别和更强的肿瘤杀伤。合成生物学(synthetic biology)是一门汇集生物学、基因组学和工程学等多种学科的交叉学科,利用工程学原理可通

过人工合成生物元件、模块和基因电路等对细胞进行设计和改造,以实现用户所需要的功能。近年来,合成生物学力图使用工程学原理来继续改造CAR-T细胞,通过在细胞中加入基因回路,让它们能够感受外来信号并且做出简单的逻辑决策。本文主要围绕现阶段实体肿瘤的治疗困境,对基于合成生物学的工程化CAR-T细胞最新研究进展作一综述。

1 利用免疫调节剂改善CAR-T细胞活性和免疫抑制性TME

尽管CAR-T细胞治疗在B细胞白血病患者中可以实现长达24个月的持续生存^[5],但是在实体肿瘤中免疫抑制性TME通常会通过多种因素阻碍T细胞持续发挥功能,例如诱导检查点抑制和T细胞耗竭。因此开发支持TME中T细胞长久发挥功能的新方法在CAR-T细胞疗法中至关重要。

1.1 CAR-T细胞自分泌免疫调节剂

在CAR-T细胞自分泌免疫调节剂的策略中,比较经典的工程化设计是将一段分泌性蛋白编码序列与CAR结构域一起转入T细胞中,使CAR-T细胞可以分泌免疫调节剂或抗体等其他分子来进行自我激活或活化其他旁观者细胞,并在实体肿瘤的免疫抑

[基金项目] 国家自然科学基金(No.82072926)

[作者简介] 史天宇(1996—),男,硕士生,主要从事肿瘤免疫治疗相关的研究,E-mail:sstydyx@163.com

[通信作者] 孟凡岩,E-mail:fanyanmeng@hotmail.com

制性TME中刺激宿主T细胞发挥抗肿瘤能力。例如ADACHI等^[6]设计了表达IL-7和CCL19的CAR-T(7×19 CAR-T)细胞,其中CCL19作为趋化因子在减少DC凋亡、增加T细胞增殖和Th1极化方面有着重要作用;IL-7可以诱导单核细胞产生IL-1 α 、IL-1 β 和TNF- α ,该细胞因子已被证明可以增强干扰素 γ (IFN- γ)对大鼠胶质瘤的抗肿瘤作用^[7-8]。尽管以往的研究表明这种自分泌策略能够在肿瘤部位实现精准释放,但这种对旁观者细胞的激活可能会增加毒性风险。最近工程化IL-23技术对该问题进行了很好的解决:将组成IL-23蛋白的IL-12 β p40亚基基因导入T细胞基因组中,在T细胞受体(TCR)刺激下通过上调STAT3信号来诱导IL-23 β p40亚基的表达,联合固有的IL-23 α p19亚基可产生IL-23^[9-10]。通过p40-GFP蛋白定位发现,IL23与产生IL23的T细胞的优先结合,且仅发生在T细胞激活时,对旁观者细胞的影响有限。这种利用合成生物学技术的诱导式自分泌方式,在一定程度上完善了自分泌策略在系统安全性方面的不足。

1.2 工程化白介素受体CAR-T细胞

IL-2具有刺激淋巴细胞增殖、激活细胞毒性T细胞功能以及参与T细胞炎症途径等作用^[11];然而,其在临床上的主要局限之一是其高剂量下的毒性作用^[12]。IL-2受体(IL-2R)由 α 、 β 和 γ 亚基组成(IL-2R α , IL-2R β , IL-2R γ),IL-2R β 和普通 γ 链(IL-2R γ)共同形成信号二聚体,并以中等亲和力结合IL-2,而IL-2R α (CD25)不传递信号,但增加了IL-2对二元($\beta\gamma$)IL-2受体的亲和力,使T细胞对低浓度IL-2敏感^[13]。

正交IL-2系统是一种外源合成受体,最早由SOCKOLOSKY等^[14]通过基因工程实现。因为IL-2受体的 β 链是信号转导所必需的,并且可以独立结合IL-2,所以选择IL-2R β 链作为突变受体,可以合成一种正交型IL-2受体。这种系统的优势就是利用突变的IL-2细胞因子与突变的IL-2R特异性结合,避免在体内传递天然IL-2信号时产生多效刺激和全身毒性反应^[15]。2021年美国Synthekine公司ASPURIA等^[16]和宾西法尼亚大学ZHANG等^[17]同时报道了对鼠源IL-2/IL-2R β 进行的人源化改造。在这两项工作中,研究人员对鼠源正交IL-2/IL-2R β 进行人源化处理,正交IL-2成功在体内选择性激活并扩增表达IL-2R β 的CAR-T细胞;在复发或难治性淋巴瘤临床前模型中,该系统均能实现持久的抗肿瘤反应,并且能够避免或限制由CAR-T细胞诱导的细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)。为进一步加强多效刺激,最近KALBASI等^[18]又基于正交IL-2受体模

型,将正交IL-2R β 胞内结构域替换为其他细胞因子(IL-9)受体的普通 γ 链(IL-9R γ)胞内段来重定向信号,导致全新的正交受体在受到刺激后同时激活了STAT1、STAT3和STAT5多个通路信号,可直接导致再编程后的CAR-T细胞功能多样性得到提升,在胰腺癌等实体肿瘤模型中也展现出强大的抗肿瘤活性。

2 synNotch基因回路系统

传统CAR-T细胞设计仅凭CAR的抗原识别来诱导T细胞活化,有脱靶效应(on-target off-tumor)的可能。KOLE和HYRENIUS-WITTSTEN等^[19-20]成功地在细胞表面表达synNotch受体系统,并建立了由synNotch受体嵌入的CAR-T细胞,此时CAR-T细胞同时与抗原A和B结合并被激活;与双靶点CAR-T细胞不同,synNotch受体在与肿瘤表面的特定抗原A结合后,通过释放转录因子激发T细胞表达靶向第二个抗原B的CAR,从而激活T细胞去行使杀伤肿瘤功能,保护了仅表达抗原A或抗原B的正常细胞不被CAR-T细胞攻击。最近,一项新研究再次提升synNotch基因回路的应用前景,ALLEN等^[21]将synNotch基因回路与IL-2诱导回路结合,使生产IL-2的感应电路的激活绕过TCR或CAR的限制,包括消耗或抑制TCR信号的转导,直接由synNotch受体系统控制。只有当这些CAR-T细胞与肿瘤细胞直接接触时才自分泌IL-2,因此可以避免全身性释放IL-2带来的不良反应,又能有效增强CAR-T细胞的浸润和免疫抑制性实体肿瘤的清除。这种升级后的CAR-T细胞可以在到达肿瘤细胞后启动细胞因子的分泌,既能攻击肿瘤,又能有效控制激活时间,最终实现高效的肿瘤清除,具有非常广阔的应用前景。

3 利用内置开关系统降低CAR-T细胞的毒性作用

将安全开关或自杀基因插入CAR编码序列中,在毒副作用发生时可借助某些控制性药物快速消除或限制CAR-T细胞,从而缓解毒副作用^[22-24]。尽管这种方式被认为可以降低CAR-T细胞相关风险,但这种机制也会给抗肿瘤能力带来消极影响,例如导致抗肿瘤效率低下等。GIORDANO-ATTIANESE等^[25]设计了一个名为STOP-CAR的CAR-T细胞,可由小分子药物破坏其信号转导结构达到动态灭活STOP-CAR的效果,但产生的抗肿瘤活性仅相当于二代CAR-T细胞。在另一项研究中,研究人员用来那度胺作为开关分子来控制其设计的CAR-T细胞,其活性也低于传统CAR-T细胞^[26]。最近,国际权威杂志

*Cell*报道了一种高性能可调节CAR系统——SNIP CAR-T细胞:在CAR的穿膜域与4-1BB/CD3 ζ 之间共同表达由病毒衍生的NS3蛋白切割位点,并使用CD8穿膜域绑定NS3蛋白酶,该酶可在FDA批准的小分子药物Grazoprevir控制下被抑制,停药后又可恢复活性并切割NS3位点,终止CAR信号传导。SNIP CAR-T不仅可以提供可靠的安全性,而且在多个实体肿瘤模型中显示出优于亲本架构CAR-T细胞的抗肿瘤作用^[27]。

4 利用新靶点提升CAR-T细胞精准识别能力

实体肿瘤抗原靶点选择的挑战之一是靶抗原只在肿瘤组织的部分肿瘤细胞上表达,靶抗原阴性的肿瘤细胞不受CAR-T细胞的杀伤而导致肿瘤复发。针对肿瘤细胞靶点表达不均一的问题,多靶向型CAR-T细胞可以识别肿瘤细胞表面两个或多个靶点分子,即当肿瘤细胞的某一靶点分子低表达或不表达时,其他靶点还可以被相应的CAR-T细胞识别。例如杨美佳等^[28]设计的靶向CD70和B7-H3的二价串联CAR-T细胞,通过linker将CD70 scFv与B7-H3 scFv进行串联,实现单个CAR分子能够靶向两个肿瘤抗原。这种二价串联CAR-T细胞在低剂量下就可实现对肺癌和黑色素瘤异种移植瘤的控制,有效改善实体肿瘤中抗原异质性和变异性问题。除此以外,还有并联型CAR(将两个CAR分子转入一个T细胞中)、混合型CAR-T细胞(两种单独的CAR-T细胞产品按照一定剂量比例混合在一起),以及小分子偶联型CAR-T细胞(CAR-T细胞识别多种具有统一标记物的小分子适配器,该适配器可靶向不同肿瘤抗原)等^[29-32]。

双特异性T细胞衔接器(bispecific T cell engagers, BiTE)作为一种双特异性抗体,通常设计用来结合选定的TAA和TCR(一般为具有信号转导能力的CD3链),从而诱导T细胞靶向杀伤肿瘤细胞^[31]。CAR-T细胞自分泌BiTE的治疗模式可以作为多靶向型CAR-T细胞疗法的一种补充。其中BiTE除了可以增加识别抗原种类外,还具有重定向非特异性旁观者T细胞来发挥抗肿瘤效应。CHOI等^[34]开发了一种自分泌表皮生长因子受体(EGFR)特异性BiTE的CAR-T细胞,用来针对EGFR变异体III(EGFR vIII)特异性CAR-T细胞疗效受限的EGFR/EGFR vIII双阳性成胶质细胞瘤。分泌出的BiTE弥补了EGFR vIII特异性CAR-T细胞在表达EGFR成胶质细胞瘤上的盲区,在小鼠成胶质细胞瘤模型中展现了显著的肿瘤杀伤作用。

针对异质性极高或缺乏合适抗原的肿瘤,本课

题组^[35]前期通过膜融合方式将EGFR vIII插入到不表达该抗原的肿瘤细胞表面,并联合靶向EGFR vIII的CAR-T细胞,建立了基于原位抗原修饰的靶点重定向通用型CAR-T(target-redirected universal chimeric antigen receptor T, TRUE CAR-T)细胞治疗模式,实现了CAR-T细胞对无合适天然靶点的肿瘤细胞进行杀伤。这种人工修饰方式可以解决肿瘤抗原普遍存在的异质性高、阳性率低等问题,为构建一种普遍适用的CAR-T细胞疗法提供了实验依据。

5 CAR-T细胞治疗的临床研究进展

CAR-T细胞治疗实体肿瘤的临床试验大约始于2006年,由GROVER等^[36]以及LAMERS等^[37]开展了第一代CAR-T细胞靶向FR- α 阳性的卵巢癌和CAIX阳性的肾细胞癌的临床试验,虽然都有较高的安全性,但治疗效果不佳。近几年基于合成生物学的CAR-T细胞疗法开发迅速,研究者们开展了一系列针对实体肿瘤靶点的CAR-T细胞疗法临床研究,靶点主要包括HER2、GD2、EGFR、PSMA等TAA。例如NARAYAN等^[38]报道了嵌入TGF β RDN靶点的CAR-T细胞治疗前列腺癌的I期临床试验,结果显示,13名患者的CAR-T细胞和血清TGF- β 1比例之间存在显著的负相关,并且细胞动力学显示血液和肿瘤中都有扩张。PANG等^[39]报道了一名晚期肝癌患者和一名晚期胰腺癌患者在接受自分泌IL-7和CCL19的CAR-T细胞治疗后,分别在第30天和第240天肿瘤完全消失。从已报道的数据可以看出,优化后的CAR-T细胞治疗实体肿瘤的效果已经明显优于前代CAR-T细胞疗法,同时也说明这些优化后的新型CAR-T细胞治疗实体肿瘤是可靠的,并且未来有望进入临床应用。本文在表1中例举了几种基于合成生物学的CAR-T细胞临床研究,这些研究主要集中在提高CAR-T细胞的靶向性和安全性方面。所以,目前基于合成生物学的工程化CAR-T细胞,其研究热点主要集中在如何提高CAR-T细胞的活性和靶向效率以及降低毒性作用等。另外,免疫检查点抑制剂已被证明可以明显提高CAR-T细胞治疗效果,临床前研究也已经证实,通过基因工程转入并表达抗PD-1 scFv可以在提升CAR-T细胞疗效的同时,有效规避全身免疫检查点相关毒性,期待该策略的临床研究可以带来让人满意的结果^[40]。

6 结语

CAR-T细胞疗法是癌症免疫治疗领域中的热点,有极大的希望革新实体肿瘤临床治疗的现状。

从目前CAR-T细胞治疗技术的研究进展中可知,现阶段CAR-T细胞的设计主要是集中在针对经典CAR-T细胞功能调节系统的优化与完善。利用合成生物学手段改造的CAR-T细胞不仅可以提高其在实体肿瘤中的杀伤效果,还可以有效规避或缓解在肿瘤治疗中出现的CRS和神经毒性。靶点的设计要相对谨慎,但由于不同患者之间肿瘤抗原表达具有差异,也有不少学者提出个体化设计,当然这也会提高相应成本。寻求增强CAR-T细胞活性和靶向识别能

力以及降低CAR-T细胞毒副作用的新方法,依旧是当前CAR-T细胞疗法面临的主要挑战。虽然在早期临床试验中CAR-T细胞治疗实体肿瘤效果并不理想,但是随着合成生物学的工程化技术的介入,诸多研究结果表明能够通过这种方式实现对CAR-T细胞群状态的精准控制,并对实体肿瘤进行消除。相信经过更多科学、严谨的基础和临床研究后,CAR-T细胞对实体肿瘤的治疗将会迎来新的曙光。

表1 基于合成生物学的CAR-T细胞临床试验

策略	肿瘤类型	靶点	临床试验	NCT编号	状态
多靶向型CAR-T	肺癌/三阴性乳腺癌	EGFR/B7H3	I	NCT05341492	招募中
	GD2/CD70阳性肿瘤	GD2/CD70	I / II	NCT05438368	招募中
	PSMA/CD70阳型肿瘤	PSMA/CD70	I / II	NCT05437341	招募中
内置开关型CAR-T	胃癌/乳腺癌	HER2	I	NCT04650451	招募中
	B细胞淋巴瘤	CD19	I	NCT03696784	招募中
	急性淋巴细胞白血病	CD19	I / II	NCT03016377	招募中

信息来源: <https://www.clinicaltrials.gov>

[参考文献]

[1] LARSON R C, MAUS M V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(3): 145-161. DOI: 10.1038/s41568-020-00323-z.

[2] LI R, MA C, CAI H G, *et al.* The CAR T-cell mechanoimmunology at a glance[J/OL]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7(24): 2002628[2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7740088/>. DOI: 10.1002/adv.202002628.

[3] HUANG R H, LI X P, HE Y D, *et al.* Recent advances in CAR-T cell engineering[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 86 [2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7333410/>. DOI: 10.1186/s13045-020-00910-5.

[4] TAHMASEBI S, ELAHI R, KHOSH E, *et al.* Programmable and multi-targeted CARs: a new breakthrough in cancer CAR-T cell therapy[J]. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23(6): 1003-1019. DOI: 10.1007/s12094-020-02490-9.

[5] Maude S L, Teachey D T, Porter D L, *et al.* CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*. 2015, 125(26): 4017-4023. DOI: 10.1182/blood-2014-12-580068.

[6] ADACHI K, KANO Y, NAGAI T, *et al.* IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(4): 346-351. DOI: 10.1038/nbt.4086.

[7] FRITZELL S, EBERSTÄL S, SANDÉN E, *et al.* IFN γ in

combination with IL-7 enhances immunotherapy in two rat glioma models[J]. *J Neuroimmunol*, 2013, 258(1/2): 91-95. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2013.02.017.

[8] LAUFER J M, LEGLER D F. Beyond migration-chemokines in lymphocyte priming, differentiation, and modulating effector functions[J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 104(2): 301-312. DOI: 10.1002/JLB.2MR1217-494R.

[9] OPPMANN B, LESLEY R, BLOM B, *et al.* Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12 [J]. *Immunity*, 2000, 13(5): 715-725. DOI: 10.1016/s1074-7613(00)00070-4.

[10] MA X C, SHOU P S, SMITH C, *et al.* Interleukin-23 engineering improves CAR T cell function in solid tumors[J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(4): 448-459. DOI: 10.1038/s41587-019-0398-2.

[11] MALEK T R. The biology of interleukin-2[J/OL]. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 453-479[2022-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18062768/>. DOI: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090357.

[12] OVERWIJK W W, THEORET M R, FINKELSTEIN S E, *et al.* Tumor regression and autoimmunity after reversal of a functionally tolerant state of self-reactive CD8⁺ T cells[J]. *J Exp Med*, 2003, 198(4): 569-580. DOI: 10.1084/jem.20030590.

[13] WANG X Q, RICKERT M, GARCIA K C. Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its alpha, beta, and gamma receptors[J]. *Science*, 2005, 310(5751): 1159-1163. DOI: 10.1126/science.1117893.

- [14] SOCKOLOSKY J T, TROTTA E, PARISI G, *et al.* Selective targeting of engineered T cells using orthogonal IL-2 cytokine-receptor complexes[J]. *Science*, 2018, 359(6379): 1037-1042. DOI: 10.1126/science.aar3246.
- [15] ROSENBERG S A. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer[J]. *J Immunol*, 2014, 192(12): 5451-5458. DOI: 10.4049/jimmunol.1490019.
- [16] ASPURIA P J, VIVONA S, BAUER M, *et al.* An orthogonal IL-2 and IL-2R β system drives persistence and activation of CAR T cells and clearance of bulky lymphoma[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(625): eabg7565[2022-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34936383/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abg7565.
- [17] ZHANG Q, HRESKO M E, PICTON L K, *et al.* A human orthogonal IL-2 and IL-2R β system enhances CAR T cell expansion and antitumor activity in a murine model of leukemia[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(625): eabg6986 [2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9116279/>. DOI:10.1126/scitranslmed.abg6986.
- [18] KALBASI A, SIURALA M, SU L L, *et al.* Potentiating adoptive cell therapy using synthetic IL-9 receptors[J]. *Nature*, 2022, 607(7918): 360-365. DOI: 10.1038/s41586-022-04801-2.
- [19] ROYBAL K T, ROYBAL, MORSUT L, *et al.* Precision tumor recognition by T cells with combinatorial antigen-sensing circuits[J]. *Cell*, 2016, 164(4): 770-779. DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.011.
- [20] HYRENIUS-WITTSTEN A, SU Y, PARK M, *et al.* SynNotch CAR circuits enhance solid tumor recognition and promote persistent antitumor activity in mouse models[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(591): eabd8836[2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8594452/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abd8836.
- [21] ALLEN G M, FRANKEL N W, REDDY N R, *et al.* Synthetic cytokine circuits that drive T cells into immune-excluded tumors[JOL]. *Science*, 2022, 378(6625): eaba1624 [2022-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36520915/>. DOI: 10.1126/science.aba1624.
- [22] DIACONU I, BALLARD B, ZHANG M, *et al.* Inducible caspase-9 selectively modulates the toxicities of CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(3): 580-592. DOI: 10.1016/j.ymthe.2017.01.011.
- [23] PHILIP B, KOKALAKI E, MEKKAOUI L, *et al.* A highly compact epitope-based marker/suicide gene for easier and safer T-cell therapy[J]. *Blood*, 2014, 124(8): 1277-1287. DOI: 10.1182/blood-2014-01-545020.
- [24] 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.
- [25] GIORDANO-ATTIANESE G, GAINZA P, GRAY-GAILLARD E, *et al.* A computationally designed chimeric antigen receptor provides a small-molecule safety switch for T-cell therapy[J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(4): 426-432. DOI: 10.1038/s41587-019-0403-9.
- [26] JAN M, SCARFÒ I, LARSON R C, *et al.* Reversible ON- and OFF-switch chimeric antigen receptors controlled by lenalidomide[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(575): eabb6295 [2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8045771/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abb6295.
- [27] LABANIEH L, MAJZNER R G, KLYSZ D, *et al.* Enhanced safety and efficacy of protease-regulated CAR-T cell receptors [J]. *Cell*, 2022, 185(10): 1745-1763. e22. DOI: 10.1016/j.cell.2022.03.041.
- [28] YANG M J, TANG X, ZHANG Z L, *et al.* Tandem CAR-T cells targeting CD70 and B7-H3 exhibit potent preclinical activity against multiple solid tumors[J]. *Theranostics*, 2020, 10(17): 7622-7634. DOI: 10.7150/thno.43991.
- [29] TIAN Y G, LI Y L, SHAO Y P, *et al.* Gene modification strategies for next-generation CAR T cells against solid cancers [J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 54[2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7236186/>. DOI: 10.1186/s13045-020-00890-6.
- [30] JIA H J, WANG Z G, 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/OL]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 57[2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6558895/>. DOI: 10.1186/s13045-019-0741-6.
- [31] PETROV J C, WADA M, PINZ K G, *et al.* Compound CAR T-cells as a double-pronged approach for treating acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2018, 32(6): 1317-1326. DOI: 10.1038/s41375-018-0075-3.
- [32] LEE Y G, MARKS I, SRINIVASARAO M, *et al.* Use of a single CAR T cell and several bispecific adapters facilitates eradication of multiple antigenically different solid tumors [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(2): 387-396. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1834.
- [33] DREIER T, BAEUERLE P A, FICHTNER I, *et al.* T cell costimulus-independent and very efficacious inhibition of tumor growth in mice bearing subcutaneous or leukemic human B cell lymphoma xenografts by a CD19-/CD3-bispecific single-chain antibody construct[J]. *J Immunol*, 2003, 170(8): 4397-4402. DOI:10.4049/jimmunol.170.8.4397.
- [34] CHOI B D, YU X L, CASTANO A P, *et al.* CAR-T cells secreting BiTEs circumvent antigen escape without detectable toxicity[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(9): 1049-1058. DOI: 10.1038/s41587-019-0192-1.
- [35] SUN Z C, LI R T, SHEN Y, *et al.* *In situ* antigen modification-based target-redirection universal chimeric antigen receptor T

- (TRUE CAR-T) cell therapy in solid tumors[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 29 [2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8932190/>. DOI: 10.1186/s13045-022-01246-y.
- [36] GROVER A, KIM G J, LIZÉE G, *et al.* Intralymphatic dendritic cell vaccination induces tumor antigen-specific, skin-homing T lymphocytes[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(19): 5801-5808. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2421.
- [37] LAMERS C H, SLEIJFER S, VAN STEENBERGEN S, *et al.* Treatment of metastatic renal cell carcinoma with CAIX CAR-engineered T cells: clinical evaluation and management of on-target toxicity[J]. *Mol Ther*, 2013, 21(4): 904-912. DOI: 10.1038/mt.2013.17.
- [38] NARAYAN V, BARBER-ROTENBERG J S, JUNG I Y, *et al.* PSMA-targeting TGF- β -insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 trial[J]. *Nat Med*, 2022, 28(4): 724-734. DOI: 10.1038/s41591-022-01726-1.
- [39] PANG N Z, SHI J X, QIN L, *et al.* IL-7 and CCL19-secreting CAR-T cell therapy for tumors with positive glypican-3 or mesothelin[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 118[2022-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8323212/>. DOI: 10.1186/s13045-021-01128-9.
- [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.
- [收稿日期] 2022-12-20 [修回日期] 2023-03-10
[本文编辑] 阮芳铭