

嵌合抗原受体 T 细胞的结构演变及展望

赵恺 徐开林

徐州医科大学血液病研究所,徐州医科大学附属医院血液科,江苏省骨髓干细胞重点实验室 221002

通信作者:徐开林,Email:lihmd@163.com

基金项目:国家自然科学基金重点项目(81930005);国家自然科学基金面上项目(81871263、81671584);江苏省高校自然科学研究重大项目(16KJA320003);江苏省“科教强卫”青年医学人才(QNRC2016792);江苏省“青蓝工程”中青年学术带头人

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.11.019

Structural evolution and prospect of chimeric antigen receptor T cell (CAR-T cell)

Zhao Kai, Xu Kailin

Blood Diseases Institute, Xuzhou Medical University; Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University; Key Laboratory of Bone Marrow Stem Cell, Xuzhou 221002, China

Corresponding author: Xu Kailin, Email: lihmd@163.com

嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T 细胞)的诞生是人类与肿瘤的斗争中具有里程碑意义的事件。从首个人工改造 TCR 嵌合 T 细胞的出现并验证其有特异性抗原识别活性,到嵌合入特异性抗体单链可变区(scFv)片段和共刺激分子区域的 CAR-T 细胞成为主流,再到 CAR-T 细胞被临床公认为一种安全、有效、持续杀伤肿瘤细胞的免疫细胞疗法,其过程复杂又艰辛。CAR-T 细胞的演变历程是 CAR-T 细胞结构完善的历史,亦是 CAR-T 细胞经历体外实验、动物体内实验最终进入临床试验的发展史。本文我们就 CAR-T 细胞的结构演变及 CAR-T 细胞的结构创新综述如下。

一、CAR-T 细胞结构演变历程

为提高 CAR-T 细胞的杀伤效率、降低体内不良反应发生率、杀伤肿瘤效果更持久,研究者们对 CAR 的结构不断改进和完善,并根据 CAR 的结构特点对其命名,从最初的第一代 CAR-T 细胞发展到目前第四代 CAR-T 细胞经历了近

30 年的时间(图 1)。

1. 第一代 CAR-T 细胞简介:第一代 CAR-T 细胞指嵌入经典的 scFv 片段并由铰链区串联胞内信号 CD3 ζ 结构域的 T 细胞(图 1)。在将 Fv 嵌入 TCR 恒定区赋予 T 细胞类抗体识别特性后,Eshhar 团队致力于改良嵌合受体的组成和结构以提高 T 细胞的靶向杀伤能力。1993 年该团队报道,其设计了编码 TNP 抗体重链和轻链的 scFv,分别与 TCR-CD3 复合体中胞内 ζ 信号转导片段和免疫球蛋白 Fc 受体 γ 链(Fc γ R III A)结合,构建 scFvR ζ 和 scFvR γ 后转染到 T 细胞内,使 T 细胞同时具备了抗体样直接识别和细胞免疫活性的双重特征^[1]。至此,由 scFv-铰链区-CD3 ζ 组成的 CAR-T 细胞基本结构被广泛研究应用。包含此结构的 CAR-T 细胞公认为第一代 CAR-T 细胞。

2. 第二代 CAR-T 细胞结构:第一代 CAR-T 细胞在设计中并未包含共刺激分子片段,致使其无法完全激活,表现为

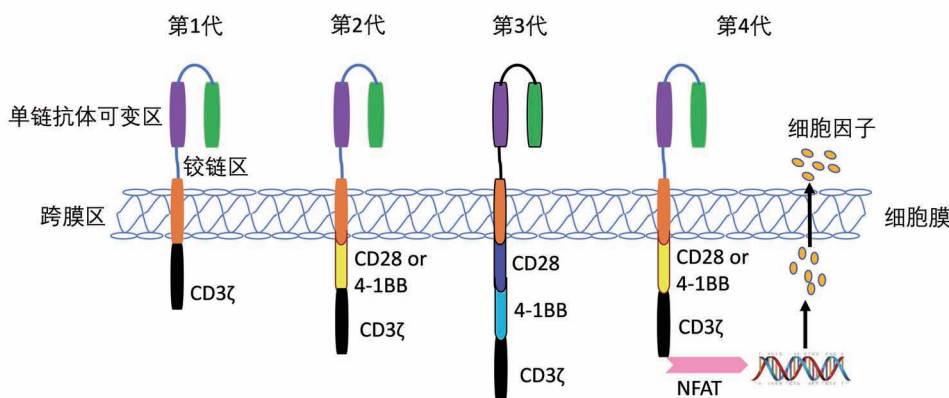


图 1 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T 细胞)细胞结构演变

在动物体内增殖、存活时间短,肿瘤杀伤效果不能维持,虽然第一代 CAR-T 细胞可延长荷瘤动物生存期,但最终实验动物仍因肿瘤细胞的持续生长而死亡。第二代 CAR-T 细胞是指串联 scFv、一个 CD28 或 4-1BB 共刺激分子片段及下游 CD3 ζ 的人工嵌合 T 细胞。在 2002 年 Maher 等^[2]首先报道其团队制备了识别前列腺特异膜抗原 (prostate-specific membrane antigen, PSMA) 的特异性 CD3 ζ -CD28 CAR-T 细胞,自此包含共刺激分子的第二代 CAR-T 细胞诞生。2004 年 Imai 等^[3]报道包含 T 细胞共刺激分子 4-1BB 信号片段的 anti-CD19-BB- ζ CAR-T 细胞对急性淋巴细胞白血病 (ALL) 细胞强有效的特异性杀伤效应。串联共刺激分子片段的 CAR-T 细胞比第一代 CAR-T 细胞显示了突出的优越性,开启了第二代 CAR-T 细胞研究和应用的大门。至此,包含特异性抗体 ScFv、一个共刺激分子 4-1BB 或 CD28 及 TCR-CD3 ζ 的第二代 CAR-T 结构明确。

3. 第三代 CAR-T 细胞结构:第三代 CAR-T 细胞是指在第二代 CAR-T 细胞基础上再增加一个共刺激分子片段构建的 CAR-T 细胞,其中共刺激分子可为经典的 CD28 和 4-1BB,也可由经典信号分子联合 OX40、ICOS、CD27、CD40-MyD88 等组成,即由 ScFv、2 个共刺激分子和 CD3 ζ 结构域串联而成。2009 年,June 团队研究结果显示在 CAR 中加入 2 个共刺激分子 CD28 与 4-1BB 后得到的 CAR-T 细胞具有分泌细胞因子水平更高与增殖活性更强的特征^[4]。随后, Tammana 等^[5]研究结果亦证实包含共刺激分子 4-1BB 和 CD28 的 CAR-T 细胞具有良好的靶细胞杀伤活性。研究者将这种包含 2 个或者 2 个以上共刺激分子的 CAR-T 称为第三代 CAR-T 细胞,其与第二代 CAR-T 细胞相比,其细胞毒性及增殖活性更强。2018 年 June 团队在《JCI insight》发表数据表明,由 ICOS 联合 4-1BB 制备的第三代 CAR-T 细胞在体内展示了超强的抗肿瘤能力,而且延长其在体内的存活寿命^[6]。2018 年 15 例 B 细胞淋巴瘤和白血病患者应用 CD19-CD28-BB- ζ CAR-T 细胞的 I/II a 期临床试验数据公布,证实了第三代 CAR-T 细胞人体应用的安全性和有效性^[7]。相比于第二代 CAR-T 细胞,第三代 CAR-T 细胞在前临床试验数据中表现出更强更持久的作用活性^[8]。但也有报道指出,第三代 CAR-T 细胞可能有 T 细胞刺激阈值的降低、T 细胞活化过度、细胞因子过量释放等风险。

4. 第四代 CAR-T 细胞结构:2010 年 Dotti 团队将 IL-15 基因嵌入入 CD19 CAR-T 细胞中,展现出了很好的细胞增殖活性并下调 PD-1 表达,体内抗肿瘤效果显著^[9]。2011 年 Chmielewski 等^[10]构建了 IL-12 可诱导分泌型 CAR-T 细胞 (iIL-12 CAR-T 细胞),在肿瘤环境中募集并增强巨噬细胞功能,在动物体内实现了 CAR-T 细胞杀伤靶抗原阴性肿瘤细胞的良好效果。2014 年 Abken 团队对第四代 CAR-T 细胞描述时提出 TRUCK T 细胞 (T-cells redirected for universal cytokine killing) 的概念^[11]。第四代 CAR-T 细胞指含有一个活化 T 细胞核因子 (NFAT) 转录相应元件,可以使 CAR-T 细胞在肿瘤区域分泌特定的转基因蛋白,如细胞因子 IL-12、

IL-18、趋化因子等,从而修饰肿瘤微环境,募集并活化其他免疫细胞进行免疫应答的 T 细胞。由于肿瘤细胞具有异质性,或者肿瘤细胞在免疫治疗过程中靶抗原丢失,导致这部分肿瘤细胞不具有可被 T 细胞特异性识别的抗原,无法被传统的 CAR-T 细胞识别并清除。这一问题或可通过第四代 CAR-T 技术,募集除 CAR-T 细胞以外的免疫细胞至肿瘤所在区域来解决。更为重要的是 TRUCK T 细胞的应用也不再仅限于肿瘤治疗,其在病毒感染、自身免疫病、代谢性疾病中的应用前景值得期待。

二、CAR-T 细胞结构研究的一些方向

1. scFv 新靶点的挖掘:由于血液系统肿瘤细胞的异质性强,有效靶点的选择是设计和构建 CAR-T 细胞最关键的一环。选择一个理想的靶点并非易事,作为 CAR-T 细胞的靶点最好能具备下列特征:①靶抗原应有很强的特异性,在正常组织上不表达或在很少的正常组织上有微弱表达;②绝大多数该种血液系统肿瘤患者有此抗原表达;③靶抗原最好能表达在恶性克隆细胞的表面;④患者所患的恶性肿瘤细胞上靶抗原能均一表达;⑤所选的靶点在该肿瘤的发生和发展中起着关键的作用;⑥在免疫治疗的选择性压力下,靶抗原的表达能较少下调。

CD19 靶点是目前 B 细胞肿瘤 CAR-T 细胞治疗中使用最成熟、最广泛的靶点。2003 年 Cooper 等^[12]就报道,其团队构建的 CD19 特异性 CAR-T 细胞可以有效识别并杀伤 CD19⁺急性 B 淋巴细胞白血病 (B-ALL) 和淋巴瘤细胞^[12]。2004 年含 4-1BB 共刺激分子片段的 CD19 ScFv-BB- ζ CAR-T 细胞发表^[3]。2006 年,含 CD28 共刺激分子片段的 CD19 ScFv-CD28- ζ CAR-T 细胞被报道^[13]。CD19 CAR-T 细胞已成为 B 细胞肿瘤 CAR-T 细胞治疗的主要产品。除 CD19 之外,针对 CD20、CD22、CD79b、ROR-1 等设计研发的 CAR-T 细胞,其临床应用的数据也在不断积累(表 1)。2019 年 Qin 等^[14]报道了 BAFF CAR-T 细胞可以消灭 CD19 CAR-T 细胞治疗阳性和阴性复发的肿瘤。寻找新的替代靶点,可为 CAR-T 治疗后复发的患者带来新的希望。

2013 年, Carpenter 等^[15]比较了 B 细胞成熟抗原 (BCMA) 在正常人和多发性骨髓瘤 (MM) 患者中的表达,结果发现除了浆细胞外,正常人体其他组织及 CD34⁺造血干细胞表面均未检测到 BCMA,而在 5 例 MM 患者骨髓瘤细胞表面均检测到 BCMA 高表达,以 BCMA 为靶点的 CAR-T 细胞在动物体内显示了良好的杀伤 MM 细胞的效果。其后,抗 BCMA CAR-T 细胞治疗的临床试验广泛开展^[16-19]。除了 BCMA 靶点外,CD19 靶点的 CAR-T 也有一定的抗 MM 作用;CD38、CD138、 κ 轻链 CAR-T 细胞治疗的临床试验正在进行;针对 CS1、CD44v6 等靶点的 CAR-T 研究也在不断推进。根据 2016 年《Nature review》报道及近年的文献报道总结血液系统肿瘤 CAR-T 细胞靶点见表 1。

2. scFv 靶点的特异性:目前针对 scFv 片段序列多为从鼠源性现有抗体信息中获得,虽然其可识别人源肿瘤细胞表面抗原,但动物来源属性的 CAR-T 细胞应用于人体仍存在

表 1 血液系统肿瘤嵌合抗原 T 细胞(CAR-T 细胞)靶点汇总

靶抗原	CAR 结构	靶向疾病名称
CD19	CD3 ζ , CD28 or 4-1BB CD3 ζ , CD28 and 4-1BB	急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞型非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤
CD20	CD3 ζ or CD3 ζ and 4-1BB	CD20 ⁺ 恶性肿瘤
CD22	CD3 ζ and CD28	急性 B 淋巴细胞白血病、B 细胞型非霍奇金淋巴瘤
CD23	CD3 ζ and CD28	慢性 B 淋巴细胞白血病
CD30	CD3 ζ and CD28	霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤
CD33	CD3 ζ and 4-1BB	急性髓系白血病
CD38	CD3 ζ and 4-1BB	多发性骨髓瘤、急性 B 淋巴细胞白血病
CD44v6	CD3 ζ and CD28	急性髓系白血病、多发性骨髓瘤
CD56	CD3 ζ and CD28	多发性骨髓瘤
CD70	CD3 ζ and CD28	多发性骨髓瘤、弥漫大 B 细胞淋巴瘤
CD79b	CD3 ζ and 4-1BB	弥漫大 B 细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤
CD117(c-kit)	CD3 ζ and CD28	急性髓系白血病
CD123	CD3 ζ and CD28	急性髓系白血病
CD138	CD3 ζ and 4-1BB	多发性骨髓瘤
CD319(CS1, SLAMF7)	CD3 ζ and CD28	多发性骨髓瘤
CD371(CLL-1)	CD3 ζ , CD28 and 4-1BB	急性髓系白血病
BCMA	CD3 ζ and 4-1BB	多发性骨髓瘤
BAFF-R	CD3 ζ and 4-1BB	B 细胞恶性肿瘤
FLT3	CD3 ζ , CD28 or 4-1BB	急性髓系白血病
FR β	CD3 ζ or CD3 ζ and CD28	急性髓系白血病
GPRC5D	CD3 ζ , CD28 and 4-1BB	多发性骨髓瘤
Igk	CD3 ζ and CD28	慢性淋巴细胞白血病、B 细胞恶性肿瘤、多发性骨髓瘤
IL1RAP	CD3 ζ and CD28	急性髓系白血病
Lewis Y	CD3 ζ and CD28	急性髓系白血病
LMP1	CD3 ζ , CD28 or/and 4-1BB	B 细胞淋巴瘤
MMG49	CD3 ζ and CD28	多发性骨髓瘤
NKG2D	CD3 ζ	多发性骨髓瘤、淋巴瘤
ROR1	CD3 ζ and 4-1BB	慢性淋巴细胞白血病、小淋巴细胞淋巴瘤

特异性较差及具有免疫原性的风险。为避免受机体产生抗 CAR-T 细胞免疫风险,保障 CAR-T 细胞在患者免疫系统内长期存活,构建人源性 CAR-T 是更好的选择之一。本团队应用人源 CD19 scFv 代替鼠源序列,连接 4-1BB- ζ 片段构建的 CAR-T 细胞在临床应用中显示了良好的疗效,14 例无 CAR-T 细胞治疗史的难治/复发 ALL 患者中 13 例在输注后 30 d 内获得完全缓解(CR),且 3 例患者经过鼠源 CAR-T 治疗无效后再次输注人源 CAR-T 细胞,1 例获得 CR^[20]。人源化 CD19 修饰的 CAR-T 细胞在临床应用中崭露头角。2019 年本团队再次发布应用人源化 CD19 CAR-T 联合 BCMA CAR-T 细胞治疗 21 例难治/复发 MM 的研究,总体反应率达 95%,包括 9 例获严格意义上的完全应答,3 例获 CR,5 例获得非常好的部分缓解,3 例达部分缓解,再次证实了人源化 CAR-T 细胞在临床应用中的良好效果^[18]。

3. CAR-T 细胞活化/清除开关的应用:CAR-T 细胞输注是个不可逆的过程,这种生物活性药物可在人体内长期存活,当有抗原暴露时其可经历几个周期的扩增、衰竭过程。CAR-T 细胞应用后一个最常见的急性毒性反应就是细胞因子释放综合征(CRS)。为此,怎样有效控制体内 CAR-T 细

胞的活性及功能的问题值得深入探讨。早在 2010 年可诱导型 caspase9 自杀基因(iC9)系统被导入 CD19 CAR-T 细胞,药物开启 iC9 自杀活性后,可有效将 CAR-T 细胞从体内清除^[9]。2019 年 Raje 等^[21]证实了在 CAR-T 细胞结构中嵌入淋巴细胞特异性酪氨酸激酶(LCK)片段控制 CD3 ζ 的磷酸化,可实现调控 CD28- ζ 或者 4-1BB- ζ 型 CAR-T 细胞的免疫活性。研究结果表明,应用酪氨酸激酶抑制剂达沙替尼可迅速关闭 CD8⁺ 和 CD4⁺ CAR-T 细胞的功能,此关闭状态可持续几天且并不影响 CAR-T 细胞的生存能力。可根据酪氨酸激酶抑制剂的用量实现对 CAR-T 细胞功能的部分或全部关闭,更重要的是此抑制作用是迅速、且可逆的。这种对 CAR-T 细胞实行的功能开关调控模式,在动物体内已经能较好控制致死性 CRS 的发生。此 CAR-T 细胞的结构模式能否安全、有效地应用到人体,获得类似的临床效果,仍需大量试验去验证。

4. 复合 CAR-T 细胞的构建:目前临床上常用的 CAR-T 细胞为识别单一靶抗原的 scFv 片段的 CAR-T 细胞,然而同一种类的肿瘤细胞表达特异性抗原的丰度和种类并不一致,因此有研究者提出设计复合 CAR-T 把 2 个或以上 scFv 识别

区的序列联合嵌入构建 CAR-T 细胞,以期此 CAR-T 细胞能够对同一类型肿瘤中各亚型细胞的杀伤范围更广泛。早在 2016 年 Grill 团队在《J Clin Invest》提出 CD19 和 CD123 双靶点 CAR-T 细胞预防 CD19 单靶点 CAR-T 细胞治疗中肿瘤细胞 CD19 抗原丢失导致 CAR-T 细胞治疗失败的理论,并验证了 CD19-CD23 CAR-T 细胞在动物体内杀伤 B-ALL 细胞的优越性^[22]。Zah 等^[23]报道了利用 CD19 和 CD20 双抗原特异性 CAR-T 细胞(OR-gate CAR-T)杀伤 B 细胞淋巴瘤的数据,表明此 OR-gate CAR-T 可以杀伤自发性丢失 CD19 的 B 淋巴瘤细胞而优于单 CD19 CAR-T 细胞。此外,2018 年 Chen 等^[24]报道应用 BCMA 联合 CS1 抗体片段制备的 BCMA-CS1 cCAR-T 细胞,在动物体内显示出良好的杀伤 MM 细胞效应。上述复合 CAR-T 细胞理念的提出,弥补了单一 CAR-T 细胞靶向性的不足,前期动物实验的成功为临床应用奠定了基础,复合 CAR-T 细胞在临床实践中的安全性、有效性评价也有待更多的临床试验来验证。

5. 转换型 CAR-T 细胞的构建:很多的实体肿瘤都表达高水平的抑制性配体比如 PD-L1 等。利用针对抑制性配体的受体序列构建的 CAR-T 细胞则有可能将此抑制性信号转换为 T 细胞活化信号,从而介导肿瘤细胞的杀伤作用。由此观点出发 PD-1-CD28 转换型 CAR-T 细胞应运而生,此 PD-1-CD28 CAR-T 细胞可实现良好的增殖和细胞因子释放等 T 细胞活化行为,在小鼠体内可有效清除肿瘤细胞并保留一定的记忆特性;且可竞争性结合肿瘤细胞表面高表达的 PD-L1 配体,从而将原本 PD-L1/PD-1 传导的抑制性信号转换为 CD28 介导的 T 细胞活化信号,最终实现对肿瘤细胞的杀伤效应^[25]。此大胆创新的实践,不再苦于肿瘤异质性高而靶抗原特异性不强的局限,借助肿瘤发生后恶性细胞自身的特征为切入点设计 CAR-T 细胞。肿瘤细胞表面其他高表达的免疫抑制受体也将成为被尝试的对象。

6. 通用型 CAR-T 细胞(UCART)的构建:目前大部分 CAR-T 细胞来源于患者自身 T 细胞,可能出现 T 细胞数目不足、扩增不良等状况,且这种个体化定制的 CAR-T 细胞制备成本昂贵,因此利用基因编辑技术构建出既能针对肿瘤抗原又不产生移植物抗宿主病(GVHD)的同种异体 UCART 将是未来的努力方向。现有研究多使用 ZFN、TALEN 及 CRISPR/Cas9 等基因编辑工具,敲除异体 T 细胞上的 TCR、MHC 及相关信号通路基因,从而防止异体型 CAR-T 的排斥反应,达到制备现成 CAR-T 细胞的目的^[26]。2017 年 Qasim 等^[27]报道利用 TALEN 系统构建的 UCART19 治疗了 2 例 B-ALL 患者,28 d 达到分子生物学缓解。另外,针对 CD123 靶点构建的 UCART123 治疗急性髓系白血病(AML)的 I 期临床试验(NCT02159495)也在进行。除了上述 UCART 的基本结构构建之外,还可以敲除 PD1、CTLA4 等 T 细胞抑制信号分子,进一步增强 UCART 细胞的功能。这种带有抗原识别适配器的 UCART 细胞,通过基因手段改变了 CAR-T 细胞个体化制备的局面,使其成为一种现货储备的即用型细胞疗法。但是,目前 UCART 细胞也面临一定的技术挑战,如微

量 TCR 阳性的 CAR-T 细胞仍可引起 GVHD 反应、基因编辑过程的脱靶效应等,仍需要进一步探索。

三、展望

CAR-T 细胞治疗在临床应用的开展到如今初具规模不过短短 10 年时间,随着 CAR-T 细胞结构的逐步改进和完善,众多病例已从中获益。面对 CAR-T 细胞治疗中遇到的问题,研究者一直在积极寻找解决的途径。为寻找 AML 的特异性靶抗原,Grill 团队于 2018 年在《Cell》报道,利用基因编辑工具 CRISPR/Cas9 移除健康造血干细胞的 CD33 分子,使 CD33 CAR-T 细胞特异性靶向 AML 肿瘤细胞,获得良好治疗效果^[28],提示基因工程改造将使 CAR-T 细胞应用于更广阔的领域。2018 年 June 团队在《Nature》报告,CAR 序列被无意插入到了 TET2 基因中,赋予了这个 CAR-T 细胞更强的增殖能力、抗癌能力和持久的寿命,该例接受 CAR-T 治疗的 CLL 患者的病情得到了长期(随访 5 年)控制^[29]。未来是否可在 CAR-T 结构中加入细胞定向插入引导序列,从而调控 CAR-T 细胞的体内功能等研究也指日可待。另外,2019 年发表于《Nature》上的研究表明,重编程上调 CAR-T 细胞的 c-Jun 基因,使得 CAR-T 细胞在体内抵抗细胞衰竭,表现出更强的抗癌活性^[30]。在实体肿瘤的研究中,为增强 CAR-T 细胞杀伤肿瘤效果,给 CAR-T 细胞引入趋化因子受体基因如 CXCR2、CCR4、CCL17 和 CCL2 等,使 T 细胞能定向迁移到预定靶点。综上所述,CAR-T 细胞在基因结构层面具有良好的拓展潜力,未来在此方面的研究价值可观。

参考文献

- [1] Eshhar Z, Waks T, Gross G, et al. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90 (2):720-724. DOI: 10.1073/pnas.90.2.720.
- [2] Maher J, Brentjens RJ, Gunset G, et al. Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta/CD28 receptor [J]. Nat Biotechnol, 2002, 20 (1):70-75. DOI: 10.1038/nbt0102-70.
- [3] Imai C, Mihara K, Andreatsky M, et al. Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia [J]. Leukemia, 2004, 18 (4):676-684. DOI: 10.1038/sj.leu.2403302.
- [4] Carpenito C, Milone MC, Hassan R, et al. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106 (9):3360-3365. DOI: 10.1073/pnas.0813101106.
- [5] Tammana S, Huang X, Wong M, et al. 4-1BB and CD28 signaling plays a synergistic role in redirecting umbilical cord blood T cells against B-cell malignancies [J]. Hum Gene Ther, 2010, 21 (1):75-86. DOI: 10.1089/hum.2009.122.

- [6] Guedan S, Posey AD Jr, Shaw C, et al. Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation [J]. *JCI Insight*, 2018, 3(1): e96976. DOI: 10.1172/jci.insight.96976.
- [7] Enblad G, Karlsson H, Gammelgård G, et al. A Phase I/IIa Trial Using CD19- Targeted Third- Generation CAR T Cells for Lymphoma and Leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(24): 6185-6194. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0426.
- [8] Ramos CA, Rouce R, Robertson CS, et al. In Vivo Fate and Activity of Second- versus Third- Generation CD19- Specific CAR- T Cells in B Cell Non-Hodgkin's Lymphomas [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(12): 2727-2737. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.09.009.
- [9] 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.
- [10] Chmielewski M, Kopecky C, Hombach AA, et al. IL-12 release by engineered T cells expressing chimeric antigen receptors can effectively Muster an antigen-independent macrophage response on tumor cells that have shut down tumor antigen expression [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(17):5697-5706. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0103.
- [11] Chmielewski M, Hombach AA, Abken H. Of CARs and TRUCKS: chimeric antigen receptor (CAR) T cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma [J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1):83-90. DOI: 10.1111/imr.12125.
- [12] Cooper LJ, Topp MS, Serrano LM, et al. T-cell clones can be rendered specific for CD19: toward the selective augmentation of the graft-versus-B-lineage leukemia effect [J]. *Blood*, 2003, 101(4):1637-1644. DOI: 10.1182/blood-2002-07-1989.
- [13] Kowolik CM, Topp MS, Gonzalez S, et al. CD28 costimulation provided through a CD19- specific chimeric antigen receptor enhances in vivo persistence and antitumor efficacy of adoptively transferred T cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(22): 10995-11004. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0160.
- [14] Qin H, Dong Z, Wang X, et al. CAR T cells targeting BAFF-R can overcome CD19 antigen loss in B cell malignancies [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(511):eaaw9414. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaw9414.
- [15] Carpenter RO, Evbuomwan MO, Pittaluga S, et al. B-cell maturation antigen is a promising target for adoptive T-cell therapy of multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(8):2048-2060. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2422.
- [16] Sidaway P. Haematological cancer: Anti-BCMA CAR T cells show promise in MM [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(9): 530. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.125.
- [17] Killock D. Anti-BCMA CAR T cells for MM. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(8):465. DOI: 10.1038/s41571-019-0229-x.
- [18] Yan Z, Cao J, Cheng H, et al. A combination of humanised anti-CD19 and anti-BCMA CAR T cells in patients with relapsed or refractory multiple myeloma: a single-arm, phase 2 trial [J]. *Lancet Haematol*, 2019, 6(10):e521-e529. DOI: 10.1016/S2352-3026(19)30115-2.
- [19] Raje N, Berdeja J, Lin Y, et al. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(18):1726-1737. DOI: 10.1056/NEJMoa1817226.
- [20] 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.
- [21] Mestermann K, Giavridis T, Weber J, et al. The tyrosine kinase inhibitor dasatinib acts as a pharmacologic on/off switch for CAR T cells [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(499): eaau5907. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau5907.
- [22] Ruella M, Barrett DM, Kenderian SS, 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.
- [23] Zah E, Lin MY, Silva-Benedict A, et al. ADDENDUM: T Cells Expressing CD19/CD20 Bispecific Chimeric Antigen Receptors Prevent Antigen Escape by Malignant B Cells [J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(7):639-641. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0108.
- [24] Chen KH, Wada M, Pinz KG, et al. A compound chimeric antigen receptor strategy for targeting multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2018, 32(2):402-412. DOI: 10.1038/leu.2017.302.
- [25] Kobold S, Grassmann S, Chaloupka M, et al. Impact of a New Fusion Receptor on PD-1- Mediated Immunosuppression in Adoptive T Cell Therapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(8): djv146. DOI: 10.1093/jnci/djv146.
- [26] Zhao J, Lin Q, Song Y, et al. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR T cells [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 132. DOI: 10.1186/s13045-018-0677-2.
- [27] 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]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(374): eaaj2013. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaj2013.
- [28] Kim MY, Yu KR, Kenderian SS, et al. Genetic Inactivation of CD33 in Hematopoietic Stem Cells to Enable CAR T Cell Immunotherapy for Acute Myeloid Leukemia [J]. *Cell*, 2018, 173(6):1439-1453.e19. DOI: 10.1016/j.cell.2018.05.013.
- [29] Fraietta JA, Nobles CL, Sammons MA, 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.
- [30] Lynn RC, Weber EW, Sotillo E, et al. c-Jun overexpression in CAR T cells induces exhaustion resistance [J]. *Nature*, 2019, 576(7786):293-300. DOI: 10.1038/s41586-019-1805-z.

(收稿日期:2020-04-14)

(本文编辑:刘爽)