

嵌合抗原受体修饰的T细胞治疗肿瘤的不良反 及相关治疗方案的研究进展

李津杞 顾海慧 杨建民 钱宝华

Research progress of the side effect and application prospects of CAR-T cells in the treatment of malignant tumors

Li Jinqi, Gu Haihui, Yang Jianmin, Qian Baohua
Corresponding author: Qian Baohua, Department of Transfusion, Changhai Hospital, Shanghai 200433, China.
Email: qianbh1963@163.com

嵌合抗原受体修饰的T细胞(Chimeric antigen receptors modified T cells, CAR-T细胞)是过继细胞疗法中的一种,将体外激活的自体或异体免疫效应细胞输注给患者,以杀伤患者体内的肿瘤细胞。具体方法:体外分离T细胞,利用基因工程的方法将T细胞内信号传导结构域和细胞外特异性肿瘤识别受体相结合,最常见的是免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM,通常为 ζ 链)与单抗的单链可变区(scFv)结合,使CAR通过非主要组织相容性复合体限制的方式直接识别肿瘤表面抗原,发挥杀伤作用^[1-2]。随着基因工程技术的不断进步,目前CAR-T细胞已经发展到了第三代。近年来,CAR-T细胞治疗肿瘤疗效显著,尤其在B细胞恶性肿瘤中取得良好效果^[3-4]。但是,其他肿瘤缺乏特异性抗原,增加了治疗风险,存在由插入性突变、脱靶效应及细胞因子释放综合征(CRS)等引起不良反应的报道^[5]。我们就不同CAR-T细胞引起的不良反应及相应治疗方法作一综述。

一、不良反应

1. 第一代CAR-T细胞:第一代CAR将T细胞受体(TCR)的 ζ 链直接与scFv结合(图1),在体外实验成功诱导细胞凋亡,但是在体内由于存活时间短,不能诱导产生细胞因子^[6]。Park等^[7]采用特异性鼠CE7杂交瘤的L1细胞黏附分子scFv与CD3 ζ 结合,治疗儿童复发性神经母细胞瘤。第一次输注T细胞剂量为 1×10^8 ,1周内分别检测6例患者体内CAR-T细胞水平,只有4例患者可被检测到。第二次输注T细胞剂量为 1×10^9 ,1周内5例患者中只有3例能检测到CAR-T细胞。提示CAR-T细胞在体内存活时间太短,且存活的持久性与输注剂量无关。最终只有肿瘤负荷较小的1例患者

治疗有效。

Lamers等^[8]构建针对肾细胞癌特异性CAIX⁺-CAR-T细胞,逆转录病毒转染3例患者,治疗CAIX⁺肾细胞癌,治疗过程中3例患者有不同程度的肝毒性,研究者分析可能由于胆管上皮同样也表达CAIX,导致CAR-T攻击正常细胞所致。研究者进一步研究表明,IL-5水平并不反映CAR-T细胞在体内的活性,但IFN- γ 水平高低直接反映输注的T细胞活性^[9]。

综上,第一代CAR-T细胞未发生CRS等不良反应,但由于其体内存活时间短,不能诱导产生细胞因子,导致治疗效果大打折扣。因此,研究者着重延长CAR-T存活时间,研制第二代CAR-T细胞。

2. 第二代CAR-T细胞:第二代CAR-T细胞在其结构中增加了共刺激结构域(图1):CD28或者TNF受体家族分子,如4-1BB(CD137)、OX40(CD134),以延长CAR-T细胞体内存活时间,诱导细胞因子的产生^[10]。目前,美国国立癌症研究所(NCI)、斯隆凯特琳纪念癌症研究中心和宾夕法尼亚大学先后报道应用第二代CAR-T细胞治疗表达CD19⁺B细胞肿瘤中取得良好疗效^[11]。Kochenderfer等^[12]报道了第1例CAR-T细胞治疗滤泡性淋巴瘤患者,该CAR-T细胞由鼠特异性抗人CD19和共刺激信号结构域CD28组成。注射CAR-T细胞后9~39周,B细胞被耗竭,血清IgG、IgM和IgA均有降低,此时应采取相应措施预防感染。其中一组7例受试者中,有5例病情得到缓解,其中1例完全缓解;另一组8例受试者,注射CAR-T细胞后第8天,4例出现B细胞耗竭,血清免疫球蛋白水平降低,细胞因子IFN- γ 和TNF- α 升高,临床表现包括低血压、发热、疲劳、肾功能衰竭等。据Kochenderfer等^[13-14]进一步研究,CAR-T细胞已经成功治疗弥漫大B细胞淋巴瘤,但治疗中细胞因子IFN- γ 和IL-6水平仍上升。患者出现不同程度的神经毒性,包括意识错乱、迟钝和失语等,其中有些患者的脑脊液中可以检测到CAR-T细胞,但没有检测到CD19靶向的抗原存在。Lee等^[15]治疗21例前B细胞急性淋巴细胞白血病患者,其中70%获完全缓解,但29%表现出3~4级的CRS,29%出现神经毒性,经过抗IL-6受体的单抗或皮质激素治疗后明显缓解。研究者称CRS、神经毒性与血液和脑脊液中的CAR-T细胞有关。

Davila等^[16]研究的16例患者中,有4例出现可逆的神经毒性:精神错乱、迟钝、失语。研究者为了更好地治疗CRS,将其分为温和型和严重型。严重型CRS:高热(38℃以上)3d以上,IFN- γ 、IL-6、IL-5、IL-10、Flt-3L、GM-CSF或fractalkin

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.02.019

基金项目:国家自然科学基金(81470322、81172249、81400152);长海医院“1255”学科建设计划(CH125531500)

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院输血科(李津杞、顾海慧、钱宝华),血液科(杨建民)

通信作者:钱宝华,Email:qianbh1963@163.com

因子中至少有2种血清水平上升75倍,低血压、缺氧、神经系统症状等毒性表现至少出现1种。温和型 CRS:有发热,但温度不及高热,血清细胞因子上升幅度小,只需常规监测和支持治疗。16例患者中有7例发生严重型 CRS,需要皮质激素或者单抗治疗,其中皮质激素杀伤 CAR-T 细胞,而单抗治疗 CRS 后, CAR-T 细胞不受影响。此外,研究者提出可通过检测血清中 C 反应蛋白(CRP)的浓度(>200 mg/L)作为替代指标来监测严重型 CRS 的发生,因为 CRP 与 IL-6 有很强的关联性,而且 CRP 的检测方法简单快捷。但是,CRP 升高不能确定是感染性还是非感染性炎症。因此 Lee 等^[17]根据临床治疗经验,提出 CRS 分级系统,该系统根据 CRS 严重程度共分5级(表1),并提供相应级别的治疗方案,减小患者治疗风险,同时使 CAR-T 细胞治疗效果最大化。

宾夕法尼亚大学研究的第二代 CAR-T 细胞,靶向 CD19 的 FMC63 单克隆抗体,采用 4-1BB 而不是 CD28 作为共刺激信号结构域^[18]。Kalos 等^[19]和 Porter 等^[20]治疗时采用剂量递增法,注射3种浓度的 CAR-T 细胞,其中2例患者出现延迟性肿瘤溶解综合征,第一次注射后 10~22 d 出现发热,研究者称与血清中细胞因子 IL-6 和 IFN- γ 浓度上升有关,但 TNF- α 没有明显增高,不属于典型的 CSR,最终2例患者完全缓解。Grupp 等^[18]的研究中,2例小儿患者出现 40℃ 以上的高热,其中1例出现危及生命的急性血管渗漏综合征和急性呼吸窘迫,需要气管插管、IL-6 受体阻断单抗治疗。Maude 等^[21]进一步研究30例急性淋巴细胞白血病(ALL)患者,其中27例完全缓解,所有患者均出现 CRS,只有27%是严重型,需要重症监护和升压药维持血压。患者经历大约1年的 B 细胞发育不全,用免疫球蛋白作为替代治疗,治疗过程中出现神经毒性症状,临床表现和上述 CD19 CAR-T 细胞治疗相同。第二代 CAR-T 细胞在3代 CAR-T 细胞中研究最多,不良反应报道常见^[22-28]。

3. 第三代 CAR-T 细胞:第三代 CAR 包括两个共刺激结构域(图1),最常见的是 CD28 和 CD137,但是还没有试验证明二者的组合要优于其他。第1例发生严重不良反应致死的是肝肺转移大肠癌的患者^[29],此患者接受第三代 CAR-T 细胞治疗,靶向表达表皮生长因子受体 2(ERBB2、HER2),其中 scFv 来源于曲妥珠单抗,美国食品药品监督管理局批准用于治疗 HER2 阳性乳腺癌。患者接受 CAR-T 细胞单次

剂量级为 10¹⁰,15 min 后出现呼吸窘迫,5 d 内多次心跳骤停,最终死亡。血清结果显示,输注 CAR-T 后 4 h IFN- γ 、GM-CSF、TNF- α 、IL-6 和 IL-10 细胞因子水平增高。在腹部、肺、纵隔淋巴结发现 CAR-T 细胞,但是癌症转移灶却未发现。研究者将此次肺损伤和 CRS 的原因归结于肺上皮表达 HER2,导致 CAR-T 脱靶攻击正常组织,最终导致器官衰竭而死亡。目前,研究者们试验采用其他抗体(FRP5)和剂量递增策略,进行 HER2 阳性肿瘤的试验。

Till 等^[30]利用逆转录病毒作为载体构建第三代 CAR-T 细胞(CD20 scFv -CD28-CD137-CD3 ζ)治疗非霍奇金淋巴瘤,12 个月后 PCR 仍能检测到效应细胞,3 例患者中,2 例完全缓解,1 例部分缓解,其中1例28岁利妥昔单抗难治性滤泡性淋巴瘤患者,注射 CAR-T 细胞后,颈部淋巴结在 1~2 周内迅速减小 3 cm。

目前第三代 CAR-T 细胞的研究不如二代成熟,也不能确定其安全性和有效性是否优于第二代,如何选择共刺激分子尚有待进一步研究。

近年来有代表性的3代 CAR-T 细胞治疗肿瘤不良反应见表2。

二、应对策略

除上述改善 CRS 的方法外,目前临床最多研究的方法是导入“自杀基因”,在 CAR 内导入一个共表达的自杀基因,当不良反应发生时,在无毒性前体药物的刺激下,自杀基因被激活,诱导 CAR-T 细胞凋亡,终止治疗^[31]。已用于研究的3种基因分别是单纯疱疹胸苷激酶(HSV-TK)、截短表皮生长因子受体(EGFR)和诱导型半胱氨酸蛋白酶9(iCasp9)基因^[32]。

HSV-TK 是最常用的基因,前体药物为阿昔洛韦和磷酸化更昔洛韦,其活性成分可干扰 DNA 的合成^[33]。虽然更昔洛韦已用于控制干细胞移植中的移植物抗宿主病,而且临床上获得一定成效,但药物自身有免疫原性,导致清除靶细胞以外的细胞^[34]。此外,TK 作用的机制是细胞有丝分裂时干扰 DNA 合成,仅作用于分裂细胞,需要几天甚至几周才能达到预期效果。

EGFR 基因可整合于 CAR-T 细胞上,可作为消除 CAR-T 细胞的靶点,作用于分裂细胞和不分裂细胞,效应时间相对短(24~48 h),但消除 CAR-T 细胞的同时,也会消除表达

表1 细胞因子释放综合征分级系统及治疗

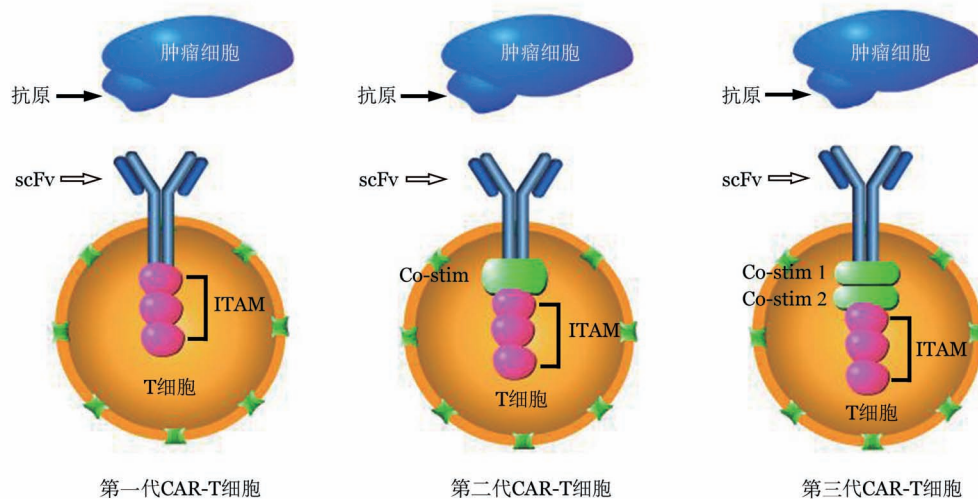
分级	临床表现	治疗
1级	无生命危险,发热、恶心、头痛、全身乏力等	时刻监护,对症支持治疗,给予解热镇痛药,密切注意感染
2级	低血压(仅需补液或一种低剂量升压药),缺氧(氧需求<40% O ₂), 2级器官毒性	密切监护心脏及其他器官功能,支持治疗,当出现合并症时或患者年龄大,可给予激素治疗
3级	低血压(需多种升压药或单一大剂量升压药),缺氧(氧需求≥40% O ₂),3级器官毒性或4级器官毒性伴转氨酶升高	时刻监护,支持治疗,给予托珠单抗免疫抑制或皮质类固醇
4级	危及生命,需机械通气,4级器官毒性不伴转氨酶升高	时刻监护,支持治疗,给予托珠单抗免疫抑制或皮质类固醇
5级	死亡	

注:2~4级器官毒性根据常见不良反应事件评价标准4.0(CTCAE v4.0)评定

表2 嵌合抗原受体修饰的T(CAR-T)细胞治疗肿瘤不良反应相关报道

作者	报道年份	疾病类型	代别	T细胞靶点	不良反应	原因
Lamers等 ^[8]	2007	肾癌	第一代	CAIX	肝毒性	胆管上皮同样也表达CAIX,导致CAR-T细胞攻击正常细胞
Brentjens等 ^[4]	2011	难治性CLL、 复发ALL	第二代	CD19	发热、寒颤、低血压、肾衰竭,B细胞 衰竭	原因不明
Kochenderfer等 ^[13]	2012	DLBCL	第二代	CD19	发热、低血压、肾功能不全、不同程 度精神毒性	细胞因子释放综合征
Kochenderfer等 ^[14]	2015	惰性淋巴瘤、CLL、 DBLCL	第二代	CD19	发热、低血压、神经系统症状,1例突 然死亡	推测源自CAR的T细胞导致神经 毒性
Davila等 ^[16]	2014	复发或难治性 B-ALL	第二代	CD19	可逆的神经毒性:精神错乱、迟钝和 失语	细胞因子释放综合征
Grupp等 ^[18]	2013	复发或难治性 pre-B-ALL	第二代	CD19	B细胞衰竭	细胞因子释放综合征
Kalos等 ^[19]	2011	晚期CLL	第二代	CD19	B细胞衰竭	原因不明
Jensen等 ^[22]	2010	难治性FL、DBLCL	第二代	CD19/CD20	淋巴细胞减少或嗜酸粒细胞增多	抗转基因免疫应答导致的排斥反应
	2013	MCL、CLL、 DBLCL	第二代	CD19	B细胞衰竭、肿瘤溶解综合征,其他 不良反应(发热、一过性低血压)	细胞因子释放综合征
Brentjens等 ^[25]	2013	复发性ALL	第二代	CD19	微小残留病变	细胞因子介导毒性反应
Ritchie等 ^[26]	2013	AML	第二代	Lewis-Y	中性粒细胞短暂减少	原因不明
Wang等 ^[27]	2015	AML	第二代	CD33	寒颤、高热、血清细胞因子升高	细胞因子释放综合征
Beatty等 ^[28]	2014	晚期恶性胸膜间皮 瘤、转移性胰腺癌	第二代	间皮素	心脏骤停、呼吸衰竭、弥散性血管内 凝血、肠梗阻、腹痛和淋巴细胞增多	脱靶效应
Morgan等 ^[29]	2010	肝肺转移大肠癌	第三代	ERBB2/HER2	呼吸窘迫,死亡	肺上皮表达HER2,导致CAR-T细 胞攻击正常组织
Till等 ^[30]	2012	FL、MCL	第三代	CD20	发热、低血压、低氧血症	原因不明

注:DLBCL:弥漫大B细胞淋巴瘤;ALL:急性淋巴细胞白血病;CLL:慢性淋巴细胞白血病;MCL:套细胞淋巴瘤;FL:滤泡性淋巴瘤;AML:急性髓系白血病



scFv:单链可变区;ITAM:免疫受体酪氨酸活化基序;Co-stim:共刺激结构域

图1 各代嵌合抗原受体修饰的T(CAR-T)细胞结构示意图

EGFR的正常组织细胞。它的前体药物是西妥昔单抗,容易获得。

iCasp9基因是目前研究中最快诱导细胞凋亡的自杀基因(1 h内),前体药物是小分子二聚体AP1903,它可以连

接两个 iCasp9 形成活性酶。4 例儿童接受 iCasp9-CAR-T 细胞治疗后,发生移植物抗宿主病,及时给予 AP1903,成功激活 iCasp9,诱导 CAR-T 细胞凋亡^[35-36]。这表明 iCasp9 或许可以用于控制速发型不良反应,如 CRS。Hoyos 等^[37]研究表明,体外实验中,将 iCasp9 导入 CAR-T 细胞,激活 iCasp9 可以迅速诱导 CAR-T 细胞凋亡。但 AP1903 尚属于实验药品,实验人员必须签署协议,才能通过供应商获得。

此外,基因转导也存在一定的不良反应,如基因修饰导致的 DNA 断裂,有成瘤风险;逆转录病毒长末端重复序列可产生基因毒性导致的插入性突变;胚胎突变或胚胎传播导致的垂直传播;移植导致的传染性病毒扩散。目前,慢病毒和 γ -逆转录病毒转导效率高,且已被证实不会致瘤,相对安全^[38],但未见二者转导后的表达水平及培养后生物学活性的比较研究。因此,选择合适的载体也能减小不良反应。

三、展望

综上所述,CAR-T 细胞在治疗恶性肿瘤尤其是 B 细胞恶性肿瘤上已取得令人欣喜的成果,但在其他肿瘤的治疗中相对研究不够成熟。CAR 在治疗疾病的同时也存在许多问题,除了临床实践中经常见到不良反应的报道以外,仍需时刻监测是否有插入性突变的危险。因此,寻找肿瘤特异性抗原合理设计 CAR,使用合适的 CAR-T 细胞剂量递增策略,患者给药后的实时监护,以避免脱靶效应、CRS 等不良反应的发生,是未来 CAR-T 细胞安全治疗的保证,有效提高治疗效率的保障,也是目前急需解决的问题。

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.
- [2] Dotti G, Gottschalk S, Savoldo B, et al. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells [J]. Immunol Rev, 2014, 257 (1):107- 126. doi: 10.1111/imr.12131.
- [3] Xu XJ, Zhao HZ, Tang YM. Efficacy and safety of adoptive immunotherapy using anti- CD19 chimeric antigen receptor transduced T-cells: a systematic review of phase I clinical trials [J]. Leuk Lymphoma, 2013, 54 (2):255- 260. doi: 10.3109/10428194.2012.715350.
- [4] Brentjens RJ, Rivière I, Park JH, 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.
- [5] Casucci M, Hawkins RE, Dotti G, et al. Overcoming the toxicity hurdles of genetically targeted T cells [J]. Cancer Immunol Immunother, 2015, 64 (1):123- 130. doi: 10.1007/s00262- 014- 1641-9.
- [6] 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.
- [7] Park JR, Digiusto DL, Slovak M, et al. Adoptive transfer of chimeric antigen receptor re- directed cytolytic T lymphocyte clones in patients with neuroblastoma [J]. Mol Ther, 2007, 15 (4): 825-833.
- [8] Lamers CH, Langeveld SC, Groot-van Ruijven CM, et al. Gene-modified T cells for adoptive immunotherapy of renal cell cancer maintain transgene- specific immune functions in vivo [J]. Cancer Immunol Immunother, 2007, 56(12): 1875-1883.
- [9] Lamers CH, 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.
- [10] Finney HM, Akbar AN, Lawson AD. Activation of resting human primary T cells with chimeric receptors: costimulation from CD28, inducible costimulator, CD134, and CD137 in series with signals from the TCR zeta chain [J]. J Immunol, 2004, 172(1):104-113.
- [11] Ramos CA, Savoldo B, Dotti G. CD19-CAR trials [J]. Cancer J, 2014, 20(2):112-118. doi: 10.1097/PPO.000000000000031.
- [12] Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19 [J]. Blood, 2010, 116 (20):4099- 4102. doi: 10.1182/blood-2010-04-281931.
- [13] Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, et al. B- cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti- CD19 chimeric- antigen- receptor- transduced T cells [J]. Blood, 2012, 119 (12): 2709-2720. doi: 10.1182/blood-2011-10-384388.
- [14] Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B- cell lymphoma and indolent B- cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti- CD19 chimeric antigen receptor [J]. J Clin Oncol, 2015, 33(6):540-549. doi: 10.1200/JCO.2014.56.2025.
- [15] Lee DW, Kochenderfer JN, 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.
- [16] Davila ML, Riviere I, Wang X, et al. Efficacy and toxicity management of 19- 28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Sci Transl Med, 2014, 6(224):224- 225. doi: 10.1126/scitranslmed.3008226.
- [17] Lee DW, Gardner R, Porter DL, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome [J]. Blood, 2014, 124 (2):188- 195. doi: 10.1182/blood- 2014- 05- 552729.

- [18] Grupp SA, 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.
- [19] Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(95):95ra73. doi: 10.1126/scitranslmed.3002842.
- [20] Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(8):725-733. doi: 10.1056/NEJMoa1103849.
- [21] Maude SL, Frey N, Shaw PA, 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.
- [22] Jensen MC, Popplewell L, Cooper LJ, et al. Antitransgene rejection responses contribute to attenuated persistence of adoptively transferred CD20/CD19-specific chimeric antigen receptor redirected T cells in humans [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010, 16(9):1245-1256. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.03.014.
- [23] Kochenderfer JN, Dudley ME, Carpenter RO, et al. Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2013, 122(25):4129-4139. doi: 10.1182/blood-2013-08-519413.
- [24] Maude SL, Teachey DT, Porter DL, 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.
- [25] Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, et al. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(177):177ra38. doi: 10.1126/scitranslmed.3005930.
- [26] Ritchie DS, Neeson PJ, Khot A, et al. Persistence and efficacy of second generation CAR T cell against the LeY antigen in acute myeloid leukemia [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(11):2122-2129. doi: 10.1038/mt.2013.154.
- [27] Wang QS, Wang Y, Lv HY, et al. Treatment of CD33-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in one patient with relapsed and refractory acute myeloid leukemia [J]. *Mol Ther*, 2015, 23(1):184-191. doi: 10.1038/mt.2014.164.
- [28] Beatty GL, Haas AR, Maus MV, 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.
- [29] Morgan RA, Yang JC, 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.
- [30] Till BG, Jensen MC, Wang J, et al. CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results [J]. *Blood*, 2012, 119(17):3940-3950. doi: 10.1182/blood-2011-10-387969.
- [31] Russo V, Bondanza A, Ciceri F, et al. A dual role for genetically modified lymphocytes in cancer immunotherapy [J]. *Trends Mol Med*, 2012, 18(4):193-200. doi: 10.1016/j.molmed.2011.12.003.
- [32] Corrigan-Curay J, Kiem HP, Baltimore D, et al. T-cell immunotherapy: looking forward [J]. *Mol Ther*, 2014, 22(9):1564-1574. doi: 10.1038/mt.2014.148.
- [33] Ciceri F, Bonini C, Stanghellini MT, et al. Infusion of suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-II study [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(5):489-500. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70074-9.
- [34] Traversari C, Marktel S, Magnani Z, et al. The potential immunogenicity of the TK suicide gene does not prevent full clinical benefit associated with the use of TK-transduced donor lymphocytes in HSCT for hematologic malignancies [J]. *Blood*, 2007, 109(11):4708-4715.
- [35] Di Stasi A, Tey SK, Dotti G, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(18):1673-1683. doi: 10.1056/NEJMoa1106152.
- [36] Zhou X, Di Stasi A, Tey SK, et al. Long-term outcome after haploidentical stem cell transplant and infusion of T cells expressing the inducible caspase 9 safety transgene [J]. *Blood*, 2014, 123(25):3895-3905. doi: 10.1182/blood-2014-01-551671.
- [37] 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.
- [38] June CH, Blazar BR, Riley JL. Engineering lymphocyte subsets: tools, trials and tribulations [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(10):704-716. doi: 10.1038/nri2635.

(收稿日期:2015-07-06)

(本文编辑:刘爽)