

供者来源 CD19-CAR-T 细胞在异基因造血干细胞移植后复发 B 细胞恶性肿瘤中的应用

金鑫 武日茂 赵明峰

Donor-derived CD19 chimeric antigen receptor T cells for relapsed B cell malignancies after allogeneic hematopoietic stem cell transplantations Jin Xin, Wu Rimao, Zhao Mingfeng

Corresponding author: Zhao Mingfeng, Department of Hematology, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China. Email: zmfzmf@hotmail.com

恶性 B 细胞疾病包括急性和慢性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL、B-CLL)以及一些淋巴瘤亚型。除了弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL),对于大多数患这些疾病的成人患者来说,目前的传统疗法治愈率很低,异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)可以提高治愈率,但还会有很多患者因移植失败而不能治愈。国际血液和骨髓移植研究中心 2014 年的报告显示,CLL 和成人 ALL 行 allo-HSCT 后,患者的 5 年生存率分别为 40%~50%和 20%~50%。预防 allo-HSCT 后疾病复发的作用机制,主要是通过生成供者来源的 T 细胞和 NK 细胞产生的移植物抗白血病(GVL)效应^[1],然而,疾病复发仍然是导致移植失败的主要原因。为了进一步提高治愈率,急需寻求一种新的治疗策略来增强高风险患者在移植前或移植后的 GLV 效应。近来,过继性免疫治疗已成功应用于恶性血液病的治疗中,它很可能和传统疗法一起,成为一种重要的巩固疗法^[2]。特别是引人瞩目的嵌合抗原受体(CAR)-T 细胞,能特异性识别肿瘤抗原的同时无 MHC 限制性,具有强大的 GVL 效应,在 B 细胞恶性肿瘤的治疗中取得了巨大突破^[3-6]。目前,这些突破大多是应用 CD19 嵌合抗原受体 T 细胞(CD19-CAR-T 细胞)取得,而对于许多 allo-HSCT 后的患者进行 CD19-CAR-T 细胞治疗,表达 CD19-CAR-T 细胞不仅可以来源于患者自身,还可以来源于“健康”的供者 T 细胞。本文拟就供者来源 CD19-CAR-T 细胞的临床研究和安全应用的新策略进行综述。

一、供者来源 CD19-CAR-T 细胞的起源

1989 年,以色列学者 Gross 等^[7]首次提出了 CAR-T 细胞的概念,他们用靶向肿瘤抗原的抗体可变区与 T 细胞受体(TCR)的恒定区融为一体,构建出一种 CAR。结果发现,

CAR-T 细胞能以无 MHC 限制性的方式识别特异性肿瘤抗原,同时激活杀伤 T 细胞(CTL),发挥杀伤肿瘤细胞作用。CAR 主要由胞外抗体识别区域和胞内信号转导区域构成,两者通过多肽接头和跨膜区连接。习惯上根据 CAR 胞内信号转导区域中所嵌入共刺激信号分子数量的不同,将 CAR 分为三代:一代 CAR(不含共刺激信号分子)、二代 CAR(含有 1 个共刺激信号分子,如 CD28)和三代 CAR(含有 2 个或 2 个以上共刺激信号分子,如 CD28、4-1BB)^[8]。

1. 患者来源 CD19-CAR-T 细胞的应用:CAR-T 细胞的一般治疗过程是先从患者外周血中收集 T 细胞,然后通过现代基因组技术设计 CAR 基因序列,用载体导入患者的 T 细胞,从而使这些 T 细胞具有无 MHC 限制的特异性结合肿瘤抗原能力,再回输给患者。该疗法的特点在于将抗体的靶向特异性与 T 细胞的归巢、组织穿透和靶向摧毁能力结合起来杀伤肿瘤^[8]。然而,这项技术经过 20 多年的努力,近 5 年才取得了一些临床研究的成功。其中,大部分构建的为靶向 CD19 的 CAR-T 细胞,CD19 分子只存在于正常和恶性 B 细胞表面,从 B 祖细胞到成熟 B 细胞阶段都有表达^[3]。近来,用自身 T 细胞构建的二代 CD19-CAR-T 细胞已经成功应用于 B-ALL 的临床试验性治疗中,在治疗复发 ALL 时,获得了高达 90%的完全缓解率,其中有 15 例为 allo-HSCT 后患者^[4]。在治疗 CLL 时也获得令人鼓舞的结果^[3],并已经扩展到非霍奇金淋巴瘤(NHL)的治疗^[5],且在恶性细胞不常表达 CD19 分子的多发性骨髓瘤(MM)的治疗中,也取得不俗的疗效^[6]。但迄今为止,临床上只成功采用了患者自身 T 细胞构建的 CD19-CAR-T 细胞进行治疗,对于许多 allo-HSCT 后的患者,或许还可以选择使用“健康”的供者 T 细胞。

2. 供者来源 CD19-CAR-T 细胞的优点和缺点:大部分 allo-HSCT 后的患者在采集自身 T 细胞前,都接受过含有细胞毒性药物的治疗(如化疗),因此,患者来源的 T 细胞经常数量稀少或缺乏持久性,这给 CD19-CAR-T 细胞的构建和使用带来了困难;临床试验也证实,细胞的持久性是 CD19-CAR-T 细胞治疗成败的一个关键因素^[9];在一些患者中发现,化疗引起淋巴细胞减少会导致调节性 T 细胞选择性扩增,从而限制了效应细胞的功能^[10]。此外,患者自身的 T 细胞也不适合药物开发模式,药物制备过程是“批量化”的,最终产品适用于所有患者,并且基本都是“现成的”,但是自身 CD19-CAR-T 细胞疗法是一种“个性化”疗法,细胞制品仅适用于患者自身,只能“现用现做”,这意味着 CD19-CAR-T 细胞制备的成本会比较昂贵,临床的广泛应用将受限。为了突

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.08.021

作者单位:300192 天津市第一中心医院血液科[金鑫(天津医科大学一中心临床学院)、武日茂、赵明峰]

通信作者:赵明峰,Email:zmfzmf@hotmail.com

破这些限制,使用供者来源的“健康”T细胞将会是一种很好的选择,其优点在于:①特异性杀伤肿瘤细胞的能力与供者GVL效应结合;②持久性可能增强;③T细胞容易采集;④避免肿瘤细胞污染;⑤“现成的”,减少花费,广泛应用。其缺点在于:存在GVHD发生的潜在风险。

二、供者来源CD19-CAR-T细胞的临床研究

目前,有多个临床试验正在评估供者来源CD19-CAR-T细胞的使用(NCT01087294、NCT01475058、NCT01430390、NCT02050347、NCT01195480、NCT01362452),但只有3个临床试验已有研究结果报道。

Cruz等^[11]为了减少GVHD发生风险,使用供者来源的病毒特异性T细胞(virus-specific T cells, VST)构建第二代CD19-CAR-VST细胞(CD3 ζ 和CD28信号活化区)。VST细胞由外部抗原刺激T细胞选择性扩增而来,已经被用来治疗allo-HSCT后与病毒相关的并发症^[12]。CD19-CAR-VST细胞具有对病毒抗原(自身TCR)和额外肿瘤抗原(CAR)的双重特异性受体^[13]。治疗的8例患者包括6例ALL、2例CLL,结果显示8例患者中有6例复发,2例缓解患者也存在高风险复发因素。在外周血能检测到CD19-CAR-VST细胞存在的时间最多达12周。值得注意的是,这次试验中的患者在治疗前未行“淋巴细胞去除术”,而这种预处理被认为对CD19-CAR-T细胞治疗有重要意义^[14]。关于这次临床试验缺乏明显的反应可能有几种解释,包括预处理治疗的缺乏以及反复体外刺激可能使细胞活性和增殖能力减弱。重要的是,全部患者中没有观察到GVHD或者炎症因子释放综合征的发生。另外,通过用病毒重刺激能使CD19-CAR-VST细胞扩增,表明自身TCR的激活对CD19-CAR-VST细胞的扩增有促进作用。然而,CD19-CAR-VST细胞扩增的增强并没有导致正常或恶性B细胞的减少,说明自身TCR的激活,可能损害CD19-CAR-VST细胞的功能。

Kochenderfer等^[15]则使用了没有处理过的供者T细胞,10例allo-HSCT后患者(9例复发,1例部分缓解)接受了供者来源的第二代CD19-CAR-T细胞治疗。同Cruz等的临床试验一样,患者也未进行“淋巴细胞去除术”预处理。10例患者中CLL 4例、DLBCL 2例、套细胞淋巴瘤(MCL)4例。结果有1例CLL患者获完全缓解(9个月),1例MCL患者获部分缓解(3个月),6例疾病稳定(1~11个月)(其中含1例有明显反应并出现溶瘤综合征的CLL患者),2例疾病进展。在外周血能检测到CD19-CAR-T细胞存在的时间仅为4周。虽然10例患者有6例出现不同程度的GVHD,但这都是在移植后就已经发生,在这次试验中并没有新发的GVHD。同时还发现有最好临床反应的3例患者,接受的都是无血缘移植,并且这3例患者都有大量的外周血CD19-CAR-T细胞增殖。另外,所有患者新发GVHD的缺乏使得很难把这些抗肿瘤反应归结于供者T细胞的GVL效应,而很可能是CD19-CAR-T细胞的特异性免疫效应。

最近,解放军总医院的Dai等^[16]也使用供者来源的第二代CD19-CAR-T细胞治疗了2例ALL患者,2例患者对治疗

均有反应。和上面两项研究结果不同,例1接受了“淋巴细胞去除术”预处理,经过3~4周的CD19-CAR-T细胞治疗,该患者获得骨髓完全缓解和髓外浸润部分缓解。例2没有接受预处理,只出现了骨髓原始细胞数减少(8周)。由于病例数太少,所以在接受供者CD19-CAR-T细胞治疗前,是否进行预处理与疗效的相关性还有待评估。2例患者均出现了2~3级的GVHD,这是第一次发现allo-HSCT后的患者使用供者来源CD19-CAR-T细胞发生GVHD。有研究者发现,GVHD的发生与allo-HSCT后供者T细胞的嵌合状态有关,当患者T细胞完全被供者T细胞嵌合时,往往就会出现2~4级的GVHD^[17]。而这2例患者开始出现GVHD时,自身T细胞刚好被完全嵌合。前面两项研究中的所有患者均未出现GVHD,有可能是因为患者体内T细胞还没有被完全嵌合,也可能因为回输的供者T细胞还不足够多(Dai等^[16]研究中的2例患者细胞回输量均很大)。更值得注意的是,例1接受抗GVHD治疗后,疾病很快进展并死亡,这可能是由于抗GVHD药物干扰了CD19-CAR-T细胞的治疗。

三、供者来源CD19-CAR-T细胞安全应用的新策略

虽然供者CD19-CAR-T细胞产生强大GVL效应的并发症没有传统allo-HSCT那么强烈,但这种治疗也面临着发生GVHD的潜在风险。几种新的设计和培养方法已经提出,这可能有助于扩大供者CD19-CAR-T细胞的治疗范围。虽然这其中的许多方法失去了自身TCR产生的潜在GVL效应,然而也使“现成的”CD19-CAR-T细胞应用增加了可能性。

1. 调控TCR:减少GVHD的一种方法就是选择TCR不识别宿主组织的T细胞。美国休斯敦贝勒医学院用VST细胞进行T细胞治疗有近二十年的经验。他们发现VST细胞的目标是病毒抗原,很难分身去产生同种异体反应,而实际上还可以通过低水平慢病毒感染的刺激,提高VST细胞在体内的持久性。Melenhorst等^[18]报道73例患者接受allo-HSCT并使用了VST细胞治疗,所有患者尚未在临床上观察到GVHD的发生,这也与Cruz等^[11]的临床研究结果相符。另一种方法是通过体外诱导转基因耐受来减少同种异体反应的发生。Davies等^[19]利用受者抗原提呈细胞(APC)刺激CD19-CAR-T细胞,同时采用CD28抑制剂阻断共刺激信号通路,使CD19-CAR-T细胞对受者抗原发生免疫耐受,让CD19-CAR-T细胞在对CD19⁺细胞发挥细胞毒作用的同时具有很好的安全性。这种培养方法依赖于对CD28信号通路的阻断,但并不是所有的外周血T细胞都表达CD28。其中,效应记忆性CD8⁺T细胞通常不表达CD28,可能继续呈递抗原,目前还不清楚这种细胞与GVHD之间的相关性。最近,Zhou等^[20]在T细胞中导入可诱导半胱氨酸蛋白酶9(inducible caspase 9, iC9)基因,iC9基因被形象的称为“自杀基因”,因为该基因表达的产物会在一种无其他活性药物的作用下呈现细胞毒性,导致表达该基因的T细胞被选择性清除,从而快速解除allo-HSCT后可能产生的GVHD等并发症。这种方法也可能为供者CD19-CAR-T细胞的安全应用提供保障。

2. 切除TCR和MHC:抑制自身TCR的另一种方法是完全切除它。基因组编辑技术提供了几种方法来敲除靶基因,使用核酸酶(例如锌指核酸酶^[21]、转录激活因子样效应核酸酶^[22-23]和CRISPR/Cas9系统^[24]),自身TCR可以被切除。这种自身TCR切除后,可以避免GVHD发生的可能或潜在的TCR信号干扰。使用相同的技术,供者来源的MHC I类分子可以被切除,修饰后的T细胞可以避免产生排斥反应,还可能制备“现成的”CD19-CAR-T细胞。尽管新的基因编辑工具可以防止GVHD的发生,但很多潜在的问题仍有待全面评估。已经证实只有通过TCR/CD3复合物的相互作用,使自身TCR激活下游通路产生CD3 ζ 二聚化,才能使包含CD3 ζ 结构的CAR发挥作用^[25-26]。这些研究表明,CD19-CAR-T细胞的活性和持久性,可能会因为切除或改变自身TCR或MHC而减弱。

3. 细胞的选择:目前,在确定哪一种T细胞亚型能介导最佳CD19-CAR-T细胞治疗方面,已经做了大量研究。更多的数据表明,选择早期或幼稚的T细胞亚型,能更好地执行杀伤肿瘤细胞任务^[27-28]。如果供者T细胞从未接触过受者的同种异体抗原,那么供者的记忆性T细胞就不能识别这些抗原,从而无法介导发生GVHD。有研究者证实仅仅移植记忆性T细胞时,能限制GVHD的发生^[29-30]。Chan等^[31]采用CD45RA作为标记,可以从幼稚T细胞表型中分选出记忆性T细胞,然后用这些记忆性T细胞去构建CD19-CAR-T细胞。在体外实验中,这种CD19-CAR-T细胞表现出了良好的抗肿瘤能力,在小鼠实验中,也显著减少了肿瘤负荷并使小鼠总生存期延长。更重要的是,它在维持抗肿瘤能力的同时没有发生GVHD。除了T细胞外,近年来使用NK细胞作为CAR的效应细胞的研究也很多。在用NK细胞输注治疗难治或复发性白血病时,NK细胞能表现出显著的GVL效应,尤其在半相合或KIR不匹配的情况下^[32-33]。通常NK细胞被认为比T细胞有更低的异基因原性,然而,NK细胞介导的GVHD已有报道^[34],这不得不使研究人员重新评估NK细胞使用的安全性。

四、结语

allo-HSCT后复发B细胞恶性肿瘤仍然是临床治疗血液病的一个难题。患者来源的CD19-CAR-T细胞已成功应用于allo-HSCT前、后B细胞恶性肿瘤患者的治疗中,然而,患者来源的CD19-CAR-T细胞的相关缺陷阻碍了临床的广泛应用。在本文中,我们综述了采用供者来源的CD19-CAR-T细胞治疗allo-HSCT后复发性B细胞恶性肿瘤患者的可行性。最新的研究结果表明,这些细胞的治疗有一定的疗效,但同时也具有发生GVHD的潜在风险,具体的作用机制还有待进一步研究。面对这些问题,一些规避风险的新策略已经提出。随着T细胞基础生物学认识的增加和细胞培养技术的进步,供者来源CD19-CAR-T细胞很有可能成为allo-HSCT后复发B细胞恶性肿瘤的重要治疗方法,而一个对所有患者都适用的“现成的”CD19-CAR-T细胞药品也可能会出现。

参考文献

- [1] Cruz CR, Bollard CM. T-cell and natural killer cell therapies for hematologic malignancies after hematopoietic stem cell transplantation: enhancing the graft-versus-leukemia effect [J]. *Haematologica*, 2015, 100(6): 709-719. doi: 10.3324/haematol.2014.113860.
- [2] Mackall CL, Merchant MS, Fry TJ. Immune-based therapies for childhood cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11(12): 693-703. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.177.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] Garfall AL, Maus MV, Hwang WT, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells against CD19 for Multiple Myeloma [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(11): 1040-1047. doi: 10.1056/NEJMoa1504542.
- [7] Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86(24): 10024-10028.
- [8] Gill S, June CH. Going viral: chimeric antigen receptor T-cell therapy for hematological malignancies [J]. *Immunol Rev*, 2015, 263(1): 68-89. doi: 10.1111/immr.12243.
- [9] 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): 224ra25. doi: 10.1126/scitranslmed.3008226.
- [10] Voo KS, Foglietta M, Percivalle E, et al. Selective targeting of Toll-like receptors and OX40 inhibit regulatory T-cell function in follicular lymphoma [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(12): 2834-2846. doi: 10.1002/ijc.28937.
- [11] Cruz CR, Micklethwaite KP, Savoldo B, et al. Infusion of donor-derived CD19-redirection virus-specific T cells for B-cell malignancies relapsed after allogeneic stem cell transplant: a phase I study [J]. *Blood*, 2013, 122(17): 2965-2973. doi: 10.1182/blood-2013-06-506741.
- [12] Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, et al. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2013, 121(26): 5113-5123. doi: 10.1182/blood-2013-02-486324.
- [13] Sun J, Huye LE, Lapteva N, et al. Early transduction produces highly functional chimeric antigen receptor-modified virus-

- specific T-cells with central memory markers: a Production Assistant for Cell Therapy (PACT) translational application [J]. *J Immunother Cancer*, 2015, 3: 5. doi: 10.1186/s40425-015-0049-1.
- [14] Ninomiya S, Narala N, Huye L, et al. Tumor indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) inhibits CD19- CAR T cells and is downregulated by lymphodepleting drugs [J]. *Blood*, 2015, 125 (25): 3905-3916. doi: 10.1182/blood-2015-01-621474.
- [15] 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.
- [16] Dai H, Zhang W, Li X, et al. Tolerance and efficacy of autologous or donor-derived T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors in adult B- ALL with extramedullary leukemia [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4 (11): e1027469. doi: 10.1080/2162402X.2015.1027469.
- [17] El-Cheikh J, Vazquez A, Crocchiolo R, et al. Acute GVHD is a strong predictor of full donor CD3 + T cell chimerism after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation [J]. *Am J Hematol*, 2012, 87 (12): 1074-1078. doi: 10.1002/ajh.23319.
- [18] Melenhorst JJ, Leen AM, Bollard CM, et al. Allogeneic virus-specific T cells with HLA alloreactivity do not produce GVHD in human subjects [J]. *Blood*, 2010, 116 (22): 4700-4702. doi: 10.1182/blood-2010-06-289991.
- [19] Davies JK, Singh H, Huls H, et al. Combining CD19 redirection and alloenergization to generate tumor-specific human T cells for allogeneic cell therapy of B-cell malignancies [J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (10): 3915-3924. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3845.
- [20] Zhou X, Dotti G, Krance RA, et al. Inducible caspase-9 suicide gene controls adverse effects from alloplete T cells after haploidentical stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2015, 125 (26): 4103-4113. doi: 10.1182/blood-2015-02-628354.
- [21] Torikai H, Reik A, Liu PQ, et al. A foundation for universal T-cell based immunotherapy: T cells engineered to express a CD19- specific chimeric- antigen- receptor and eliminate expression of endogenous TCR [J]. *Blood*, 2012, 119 (24): 5697-5705. doi: 10.1182/blood-2012-01-405365.
- [22] Berdien B, Mock U, Atanackovic D, et al. TALEN-mediated editing of endogenous T-cell receptors facilitates efficient reprogramming of T lymphocytes by lentiviral gene transfer [J]. *Gene Ther*, 2014, 21 (6): 539-548. doi: 10.1038/gt.2014.26.
- [23] Poirot L, Philip B, Schiffer- Mannioui C, et al. Multiplex Genome- Edited T-cell Manufacturing Platform for "Off-the-Shelf" Adoptive T-cell Immunotherapies [J]. *Cancer Res*, 2015, 75 (18): 3853-3864. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3321.
- [24] Mandal PK, Ferreira LM, Collins R, et al. Efficient ablation of genes in human hematopoietic stem and effector cells using CRISPR/Cas9 [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 15 (5): 643-652. doi: 10.1016/j.stem.2014.10.004.
- [25] Bridgeman JS, Hawkins RE, Bagley S, et al. The optimal antigen response of chimeric antigen receptors harboring the CD3zeta transmembrane domain is dependent upon incorporation of the receptor into the endogenous TCR/CD3 complex [J]. *J Immunol*, 2010, 184 (12): 6938-6949. doi: 10.4049/jimmunol.0901766.
- [26] Bridgeman JS, Ladell K, Sheard VE, et al. CD3 ζ -based chimeric antigen receptors mediate T cell activation via cis- and trans-signalling mechanisms: implications for optimization of receptor structure for adoptive cell therapy [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 175 (2): 258-267. doi: 10.1111/cei.12216.
- [27] Barrett DM, Singh N, Liu X, et al. Relation of clinical culture method to T-cell memory status and efficacy in xenograft models of adoptive immunotherapy [J]. *Cytotherapy*, 2014, 16 (5): 619-630. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.10.013.
- [28] Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties [J]. *Nat Med*, 2011, 17 (10): 1290-1297. doi: 10.1038/nm.2446.
- [29] Wehler TC, Nonn M, Brandt B, et al. Targeting the activation-induced antigen CD137 can selectively deplete alloreactive T cells from antileukemic and antitumor donor T-cell lines [J]. *Blood*, 2007, 109 (1): 365-373.
- [30] Terakura S, Yamamoto TN, Gardner RA, et al. Generation of CD19-chimeric antigen receptor modified CD8+ T cells derived from virus-specific central memory T cells [J]. *Blood*, 2012, 119 (1): 72-82. doi: 10.1182/blood-2011-07-366419.
- [31] Chan WK, Suwannasaen D, Throm RE, et al. Chimeric antigen receptor- redirected CD45RA- negative T cells have potent antileukemia and pathogen memory response without graft-versus-host activity [J]. *Leukemia*, 2015, 29 (2): 387-395. doi: 10.1038/leu.2014.174.
- [32] Bachanova V, Cooley S, Defor TE, et al. Clearance of acute myeloid leukemia by haploidentical natural killer cells is improved using IL-2 diphtheria toxin fusion protein [J]. *Blood*, 2014, 123 (25): 3855-3863. doi: 10.1182/blood-2013-10-532531.
- [33] Rubnitz JE, Inaba H, Kang G, et al. Natural killer cell therapy in children with relapsed leukemia [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2015, 62 (8): 1468-1472. doi: 10.1002/pbc.25555.
- [34] Shah NN, Baird K, Delbrook CP, et al. Acute GVHD in patients receiving IL-15/4-1BBL activated NK cells following T-cell-depleted stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2015, 125 (5): 784-792. doi: 10.1182/blood-2014-07-592881.

(收稿日期:2016-02-03)

(本文编辑:刘志红)