

# CD19嵌合抗原受体T细胞对不同淋巴瘤细胞杀伤活性的研究

张蕊 邓琦 隋松男 金鑫 赵明峰

**【摘要】** 目的 探讨共刺激分子为4-1BB的二代CD19嵌合抗原受体T细胞(CAR-T细胞)对不同侵袭性淋巴瘤细胞的体内、体外杀伤活性以及CAR-T细胞在体内生存的时间。方法 采用慢病毒包装并感染T细胞的方法制备CD19 CAR-T细胞,采用CCK-8、ELISA和乳酸脱氢酶细胞毒性检测法检测CD19 CAR-T细胞的增殖能力、炎症因子释放水平和对Raji(套细胞淋巴瘤细胞株)、Pfeiffer(弥漫大B细胞淋巴瘤细胞株)、EHEB(慢性淋巴细胞白血病细胞株)细胞的杀伤活性,采用流式细胞术分析CD19 CAR-T细胞治疗前后荷瘤裸鼠的肿瘤负荷和CAR-T细胞残留水平。结果 ①与二代CAR-T细胞比较,三代CAR-T细胞的体外(24、48 h)增殖能力( $P$ 值均 $<0.05$ )、对瘤细胞的杀伤活性( $P$ 值均 $<0.05$ )较强,差异有统计学意义;而炎症因子的释放水平差异无统计学意义( $P$ 值均 $>0.05$ )。②效靶比为4:1且共培养48 h时,二代CD19 CAR-T细胞对Raji细胞[(72.36 $\pm$ 2.98)%]、Pfeiffer细胞[(55.92 $\pm$ 4.16)%]、EHEB细胞[(35.53 $\pm$ 3.93)%]的杀伤活性从强到弱,差异有统计学意义( $P=0.013$ )。③裸鼠体内试验结果显示二代CAR-T细胞在EHEB荷瘤小鼠体内存活时间长于Raji荷瘤小鼠( $P=0.046$ )。结论 共刺激分子为4-1BB的二代CD19 CAR-T细胞对惰性淋巴瘤细胞株的杀伤活性稍低于对侵袭性淋巴瘤细胞株,但在惰性淋巴瘤细胞株荷瘤小鼠体内存活时间更长,可能更适合惰性淋巴瘤的治疗。

**【关键词】** 淋巴瘤;转录,遗传;免疫疗法;嵌合抗原受体

基金项目:卫计委重点攻关项目(16KG110)

## The specific cytotoxicities of chimeric antigen receptor-engineered T cells on different lymphomas

Zhang Rui, Deng Qi, Sui Songnan, Jin Xin, Zhao Mingfeng. Department of Hematology and Oncology, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Deng Qi, Email: kachydeng@126.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the specific cytotoxicities of the second and third generations of chimeric antigen receptor (CAR)-engineered T cells (CAR-T) on different lymphomas. **Methods** CAR-Ts were prepared by lentivirus packaging and infection of T cells. CCK-8, ELISA and Lactate dehydrogenase cytotoxicity assay were applied to detect the proliferation capacity, the secretion level of inflammatory factor and the specific cytotoxicity. Flow cytometry assay showed the specific cytotoxicity and residual level of CAR-T in lymphomas of treated mice. **Results** The results showed that the third generation CAR-T had greater capacity of the specific cytotoxicity and proliferation capacity than of the second generation CAR-T. But there was no prominent change of the secretion level of inflammatory factor. The specific cytotoxicity of the second generation CAR-T on highly aggressive lymphomas Raji was more prominent than in inert EHEB, but also could achieve satisfactory effect. The tumor burden in the mice injected with Raji was lower than in the mice injected with EHEB from nude mice experiment. But the residual level of CAR-T in the EHEB-injected mice was higher than in the Raji-injected ones. So the second generation CAR-T was more suitable for the treatment of indolent lymphoma. **Conclusion** The second generation CD19 CAR-T could treat aggressive lymphoma in a relatively short period, while the second generation CD19 CAR-T need a longer time in vivo to achieve satisfactory curative effect on the noble lymphoma.

**【Key words】** Lymphomas; Transcription, genetic; Immunotherapy; Chimeric antigen receptor

**Fund Program:** National Health and Family Planning Commission Key Research Projects (16KG110)

既往研究发现采用内源性T细胞进行肿瘤免疫治疗时存在“MHC限制性”<sup>[1]</sup>。近年来过继性免疫治疗已成功应用于恶性血液病的治疗中,特别是利用基因改造技术表达肿瘤特异性嵌合抗原受体T细胞(CAR-T细胞)能特异性识别肿瘤抗原,克服MHC限制性,在B细胞恶性肿瘤的治疗中取得了巨大突破<sup>[2-5]</sup>。Pulè等<sup>[6]</sup>的研究结果显示CAR-T细胞对肿瘤细胞具有良好的靶向性、杀伤活性和持久性。Brentjens等<sup>[7]</sup>用CD19 CAR(scFvCD19-CD28-CD3ζ)T细胞治疗5例微小残留病阳性的急性B细胞白血病患者均达完全缓解。以往体外和临床试验均展示了CAR-T细胞在B细胞恶性肿瘤的治疗中有着巨大的应用潜力和发展前景。在本研究中我们主要探讨了二代(含有1个共刺激分子4-1BB)和三代(含有2个共刺激分子CD28和4-1BB)的CD19 CAR-T细胞对侵袭性和惰性淋巴瘤细胞株的不同作用,特别是二代CD19 CAR-T细胞对不同淋巴瘤细胞株的作用。

## 材料与方法

1. 细胞及主要试剂:293T细胞、Raji(套细胞淋巴瘤细胞株)、Pfeiffer(弥漫大B细胞淋巴瘤细胞株)、EHEB(慢性淋巴细胞白血病细胞株)购自美国模式培养物集存库。无内毒素质粒提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。Lenti-Pac™慢病毒颗粒包装试剂盒购自上海伯易生物科技有限公司。磁珠分选试剂盒购自德国美天旎生物技术有限公司。CARTEST-19检测试剂盒购自上海近岸科技有限公司。LDH细胞毒性检测试剂盒、ELISA检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。CCK-8细胞增殖-毒性检测试剂盒购自日本同仁化学研究所。二、三代CD19质粒购自美国Creative Biolabs公司,CD19单克隆抗体(单抗)购自美国BD公司。

2. 质粒转化、扩增、提取:感受态细胞置于冰上解冻,分别加入二代(共刺激分子为4-1BB)和三代(共刺激分子为CD28和4-1BB)CD19 CAR质粒,冰中放置30 min,42℃放置30~60 s,再次置于冰中2~3 min。加入37℃预温的SOC培养基,振荡培养。取适量培养后的菌液,三区划菌,37℃过夜培养。挑取单个白色菌落,放入SOC培养基中,37℃,振荡培养。取500 μl培养后的菌液加入SOC培养基中,37℃,振荡培养。采用无内毒素质粒提取试

剂盒提取质粒后进行定量。

3. 慢病毒包装及滴度测试:转染前2 d,在平板上接种 $(1.3 \sim 1.5) \times 10^6$  293 T细胞,采用Lenti-Pac™慢病毒颗粒包装试剂盒包装慢病毒,转染48 h后收集病毒颗粒,提取病毒RNA,采用real-time PCR检测病毒滴度。用无血清的DMEM培养基悬浮病毒沉淀,分装,-80℃保存。

4. T细胞制备及慢病毒感染:采集健康志愿者外周血,采用淋巴细胞分离液提取单个核细胞。采用磁珠分选试剂盒从提取的单个核细胞中富集CD3<sup>+</sup>T细胞。获得的细胞用含有IL-2、谷氨酰胺的T细胞专用培养基培养,培养第4天接种慢病毒。

5. CAR-T细胞转染效率的检测:按CARTEST-19检测试剂盒说明书进行操作,上流式细胞仪检测CD19 CAR-T细胞的转染效率。

6. CD19 CAR-T细胞体外增殖能力的检测:CD19 CAR-T细胞于含10% FBS的RPMI 1640培养基,37℃、饱和湿度、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。按CCK-8细胞增殖毒性检测试剂盒说明书进行操作,采用酶标仪在450 nm处检测吸光度(A)值,计算其增殖能力。

7. CD19 CAR-T细胞体外杀伤活性的检测:以Raji、Pfeiffer和EHEB细胞为靶细胞(靶细胞数量为 $2 \times 10^5$ ),CAR-T细胞及未转染T细胞作为效应细胞进行实验,效靶比设为2:1和4:1。按LDH细胞毒性检测试剂盒说明书进行操作,每隔6 h采用酶标仪在490 nm处检测A值,计算其杀伤率。

$$\text{杀伤率}(\%) = \frac{A_{\text{效应细胞自发释放}} - A_{\text{靶细胞自发释放}}}{A_{\text{效应细胞最大释放}} - A_{\text{靶细胞自发释放}}} \times 100\%$$

8. CD19 CAR-T细胞引起靶细胞炎症因子释放的检测:按ELISA检测试剂盒说明书进行操作,采用酶标仪在450 nm处检测A值。

9. CD19 CAR-T细胞体内杀伤实验:BALB/c裸鼠来源于北京华阜康生物科技股份有限公司。裸鼠给予环磷酰胺腹腔注射,剂量为2.5 mg/d,连续注射3 d;第4天给予紫外照射2 h后进行尾静脉注射。收集生长状态良好的Raji、EHEB细胞,制备成细胞密度为 $5 \times 10^7/\text{ml}$ 的单细胞悬液,按每只 $5 \times 10^6$ 个细胞经尾静脉注射接种至鼠龄4~6周的BALB/c雌鼠。7 d后取裸鼠外周血100 μl加入2 μl CD19单抗,避光孵育15 min,加入红细胞裂解液裂解10 min,充分洗涤后加入200 μl PBS重悬后上流式细胞仪检测。使用CytExpert软件获取并分析10 000个细胞,记录CD19<sup>+</sup>细胞百分率以了解肿瘤负荷程

度。将荷瘤鼠随机分为实验组(每只经尾静脉注射接种 $2 \times 10^6$ 个CD19 CAR-T细胞)及对照组(经尾静脉注射接种等量生理盐水),每组5只。每隔3 d取外周血,采用流式细胞术检测CD19<sup>+</sup>细胞、CD19 CAR-T细胞百分率并记录荷瘤鼠生存期。

10. 统计学处理:实验数据均采用SPSS 11.5软件进行统计学分析,组间比较采用独立样本t检验。

### 结 果

1. CD19 CAR-T细胞的转染效率:二、三代CD19 CAR-T细胞病毒滴度分别为 $2 \times 10^8$  TU/ml、 $3 \times 10^8$  TU/ml,转染效率分别为8.72%、8.70%(图1)。

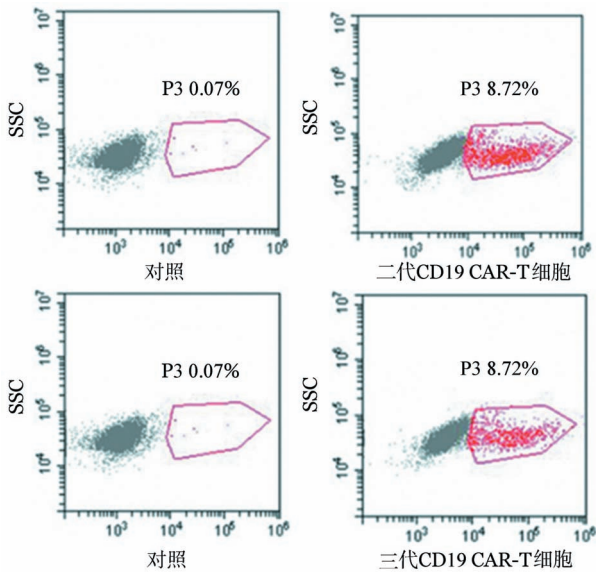


图1 二代与三代CD19 CAR-T细胞的转染效率

2. CD19 CAR-T细胞的增殖能力:实验结果显示三代CAR-T细胞的增殖能力较二代CAR-T细胞稍强,差异有统计学意义(表1)。

3. CD19 CAR-T细胞对不同淋巴瘤细胞株的体外杀伤活性:结果显示效靶比为4:1时,对于惰性的EHEB细胞,二代CAR-T细胞的杀伤活性强于三代CAR-T细胞,差异有统计学意义( $P$ 值均 $< 0.05$ );对

表1 二代与三代CD19 CAR-T细胞的体外增殖能力比较(%,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	培养时间		
	0 h	24 h	48 h
二代细胞组	43.27±2.62	62.52±3.17	88.17±1.95
三代细胞组	63.53±4.63	88.32±3.62	99.13±3.85
t值	7.342	9.131	4.245
P值	0.024	0.017	0.042

注:每组设3个复孔,实验重复3次

于侵袭性的Raji细胞,二、三代CAR-T细胞差异无统计学意义( $P$ 值均 $> 0.05$ )(表2)。CD19 CAR-T细胞针对不同侵袭性的肿瘤细胞杀伤效果也不同,其杀伤效果从强到弱依次为:Raji、Pfeiffer、EHEB,且与效靶比和时间呈正相关。效靶比为4:1的三代CD19 CAR-T细胞与Raji细胞共培养48 h后,杀伤活性达到76%(图2)。

4. CD19 CAR-T细胞对不同淋巴瘤细胞株炎症因子分泌水平的影响:结果显示二、三代CD19 CAR-T细胞作用于不同淋巴瘤细胞株细胞后,炎症因子IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 的分泌水平差异无统计学意义;作用6 h后,IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 的分泌水平达到峰值,但6 h后随着时间的增加无明显的变化(图3)。

5. 二代CD19 CAR-T细胞对荷瘤鼠肿瘤负荷的影响:结果显示EHEB和Raji细胞接种的荷瘤鼠,治疗前对照组与实验组的CD19<sup>+</sup>细胞百分率差异均无统计学意义( $P$ 值分别为0.676、0.610),治疗3、12 d后实验组的CD19<sup>+</sup>细胞百分率均较对照组下降,差异均有统计学意义( $P$ 值均 $< 0.05$ )(表3)。

6. 二代CD19 CAR-T细胞对荷瘤鼠生存的影响:接种EHEB细胞的荷瘤鼠对照组在接种肿瘤细胞15 d开始出现死亡,实验组存活 $> 40$  d,两组生存时间差异有统计学意义( $t = 7.113, P = 0.028$ )。接种Raji细胞的荷瘤鼠对照组在接种肿瘤细胞17 d开始出现死亡,实验组在35 d死亡1只,其余存活 $> 40$  d,两组生存时间差异有统计学意义( $t = 4.166, P =$

表2 二代与三代CD19 CAR-T细胞的体外杀伤活性比较(%,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	Raji细胞			Pfeiffer细胞			EHEB细胞		
	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h
二代细胞组	1±0.04	56.71±4.35	72.36±2.98	1±0.07	42.63±3.36	55.92±4.16	1±0.02	29.77±1.64	35.53±3.93
三代细胞组	1±0.03	61.03±3.88	75.28±5.84	1±0.09	43.66±2.78	65.43±4.43	1±0.08	35.34±4.83	45.66±5.25
t值	0.221	2.114	1.981	0.187	1.636	6.313	0.246	4.362	7.275
P值	0.582	0.085	0.092	0.603	0.102	0.038	0.577	0.046	0.028

注:效靶比为4:1;每组设3个复孔,实验重复3次

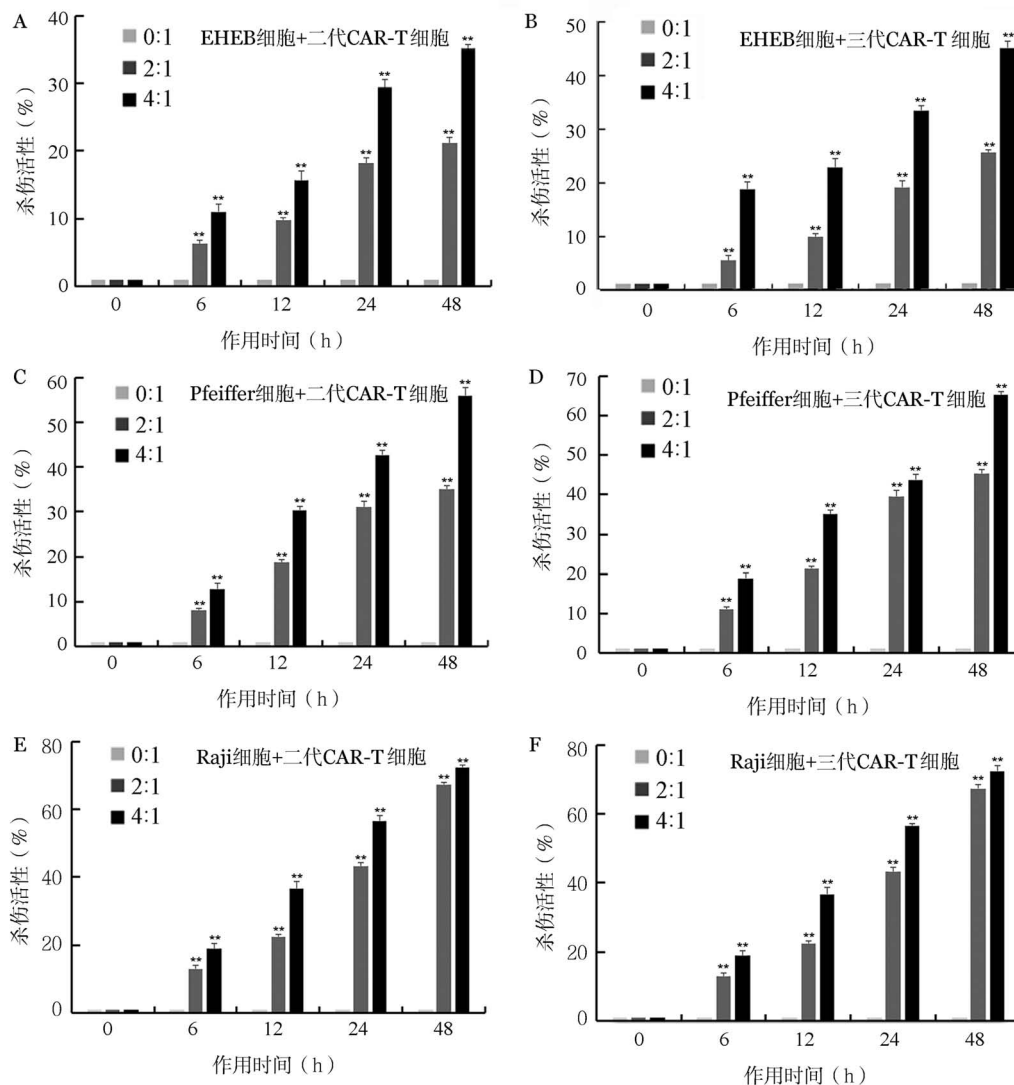


图2 不同效靶比时CD19 CAR-T细胞对不同淋巴瘤细胞株的体外杀伤活性比较(与对照组比较,  $P < 0.01$ , 每组设3个复孔, 实验重复3次)

0.046)。

7. 比较接种Raji和EHEB细胞的荷瘤鼠体内二代CD19 CAR-T细胞表达变化:在接受二代CD19 CAR-T细胞治疗的前期,随着时间的延长,接种Raji和EHEB细胞的荷瘤鼠体内CAR-T细胞的表达均有一定程度的上调,但在治疗后40 d,荷瘤鼠体内CAR-T细胞百分率开始下降,且Raji细胞荷瘤鼠组较EHEB细胞荷瘤鼠组下降明显(表4)。

## 讨论

CAR-T细胞主要由胞外抗原结合区(由来源于单克隆抗体的轻链和重链组成,中间由带韧性的铰链区连接形成单链抗体)、跨膜区域和胞内信号转导区组成<sup>[8-9]</sup>。CAR-T细胞在治疗血液肿瘤中的成功,为人类的抗癌战役带来了胜利的曙光<sup>[10-12]</sup>。由

于大部分B细胞恶性肿瘤细胞表面都表达CD19分子,而正常细胞表面表达CD19分子的细胞只限于B细胞和滤泡性树突状细胞,所以CD19分子是治疗B细胞恶性肿瘤很有潜力的靶点,以抗CD19单克隆抗体为基础构建的CAR也取得了突出成就<sup>[13-14]</sup>。目前二代CAR-T细胞治疗提高了T细胞抗肿瘤疗效,仍未全面开启T细胞的杀伤能力,于是诞生了包含两个共刺激分子(CD28、4-1BB和CD3 $\zeta$ )的三代CAR-T细胞。小鼠实验证实三代CAR-T细胞能够增强细胞因子的分泌、抑制肿瘤生长。

在本研究中我们比较了二代与三代CAR-T细胞在体外增殖能力、杀伤作用以及炎症因子的释放水平,结果显示相比二代CAR-T细胞而言,三代CAR-T细胞的肿瘤杀伤和增殖能力较强,而炎症因

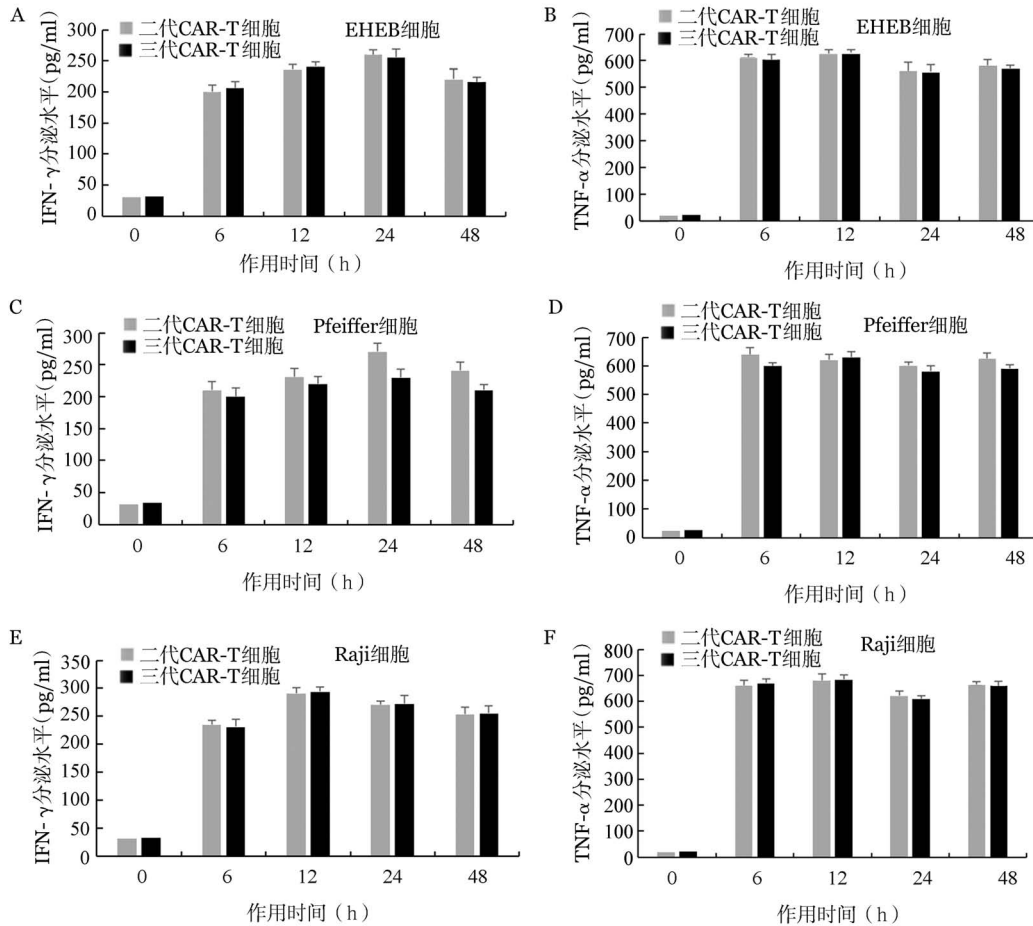


图3 CD19 CAR-T细胞对不同淋巴瘤细胞株炎症因子IFN-γ(A、C、E)和TNF-α(B、D、F)分泌水平的影响(P值均>0.05,每组设3个复孔,实验重复3次)

表3 二代CD19 CAR-T细胞对荷瘤鼠肿瘤负荷(CD19<sup>+</sup>细胞百分率)的影响(% , $\bar{x}\pm s$ )

组别	接种EHEB细胞			接种Raji细胞		
	治疗前	治疗后3 d	治疗后12 d	治疗前	治疗后3 d	治疗后12 d
对照组	72.54±2.17	78.74±6.23	86.52±2.34	70.79±3.25	80.12±3.54	86.55±7.12
实验组	69.22±4.43	58.73±6.43	48.02±5.51	72.66±6.82	40.01±5.63	1.12±0.56
t值	0.217	5.231	7.662	0.204	8.732	18.922
P值	0.676	0.038	0.024	0.610	0.018	0.007

注:每组鼠数为5只

表4 接种Raji和EHEB的荷瘤鼠体内二代CD19 CAR-T细胞表达变化的比较(% , $\bar{x}\pm s$ )

组别	鼠数	CD19 CAR-T细胞百分率		
		治疗后3 d	治疗后20 d	治疗后40 d
Raji 荷瘤鼠组	5	7.03±0.43	10.53±0.73	2.24±0.73
EHEB 荷瘤鼠组	5	6.73±0.36	14.45±0.72	12.27±0.66 <sup>a</sup>
t值		0.632	1.332	4.826
P值		0.264	0.104	0.036

注:a:鼠数为4只

子的释放水平则没有显著变化。效靶比为4:1的三代CD19 CAR-T细胞与Raji细胞共培养48 h后,杀

伤活性可达到76%。

在本研究中我们发现二、三代CAR-T细胞对肿

瘤细胞的杀伤活性,从强至弱依次为 Raji、Pfeiffer、EHEB。提示共刺激分子为 4-1BB 的二代 CD19 CAR-T 细胞以及共刺激分子为 CD28 和 41BB 的三代 CD19 CAR-T 细胞对侵袭性淋巴瘤细胞株杀伤活性肯定,杀伤活性强,对惰性淋巴瘤细胞株作用稍差于侵袭性淋巴瘤细胞株,但亦可以达到满意疗效。

我们采用从裸鼠尾静脉注射 Raji、EHEB 细胞的方法制作荷瘤鼠,是由于皮下成瘤的时间较长,同时尾静脉注射的方法也能达到效果,并且利用流式细胞术观察更为直观。我们的结果显示,对荷瘤鼠给予二代 CD19 CAR-T 细胞治疗后治疗组荷瘤鼠外周血中 CD19<sup>+</sup>细胞百分率较对照组显著下调(肿瘤负荷显著降低);而接种 Raji 细胞的荷瘤鼠肿瘤负荷的减低水平高于接种 EHEB 细胞的荷瘤鼠。

同时我们在研究中还发现,在接受二代 CD19 CAR-T 细胞治疗的前期,随着时间的延长,接种 Raji 和 EHEB 细胞的荷瘤鼠体内 CAR-T 细胞的表达均有一定程度的上调,但在治疗后 40 d,荷瘤鼠体内 CAR-T 细胞百分率开始下降,且 Raji 细胞荷瘤鼠组较 EHEB 细胞荷瘤鼠组下降明显( $P = 0.036$ )。接受二代 CD19 CAR-T 细胞治疗的荷瘤鼠其生存期较对照组延长。提示二代 CD19 CAR-T 细胞治疗侵袭性淋巴瘤在较短的时间内可迅速起效,但 CAR-T 细胞在体内存留时间短;而对惰性淋巴瘤则起效较慢,但 CAR-T 细胞在体内存活较长。

综上,我们的研究结果表明共刺激分子为 4-1BB 的二代 CD19 CAR-T 细胞对惰性淋巴瘤细胞的杀伤活性稍低于对侵袭性淋巴瘤细胞,但在惰性淋巴瘤细胞荷瘤鼠体内存活时间更长,可能更适合惰性淋巴瘤的治疗。在以后的工作中我们还需要进一步探究共刺激分子为 4-1BB 的二代 CAR-T 细胞是否在治疗中较三代 CAR-T 细胞更具优势,特别是针对惰性淋巴瘤。

#### 参考文献

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
  - [5] Lipowska-Bhalla G, Gilham DE, Hawkins RE, et al. Targeted immunotherapy of cancer with CAR T cells: achievements and challenges [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(7): 953-962. DOI: 10.1007/s00262-012-1254-0.
  - [6] Pulè MA, Straathof KC, Dotti G, et al. A chimeric T cell antigen receptor that augments cytokine release and supports clonal expansion of primary human T cells [J]. *Mol Ther*, 2005, 12(5): 933-941. DOI: 10.1016/j.ymthe.2005.04.016.
  - [7] 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.
  - [8] Jensen MC, Riddell SR. Design and implementation of adoptive therapy with chimeric antigen receptor-modified T cells [J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1): 127-144. DOI: 10.1111/imr.12139.
  - [9] 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.
  - [10] 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.
  - [11] Porter DL, Hwang WT, Frey NV, et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(303): 303ra139. DOI: 10.1126/scitranslmed.aac5415.
  - [12] 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.
  - [13] Makita S, Yoshimura K, Tobinai K. Clinical development of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(6): 1109-1118. DOI: 10.1111/cas.13239.
  - [14] Davila ML, Brentjens RJ. CD19-Targeted CAR T cells as novel cancer immunotherapy for relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2016, 14(10): 802-808.

(收稿日期:2017-02-21)

(本文编辑:刘志红)