

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.11.018

综述

## 嵌合抗原受体-T 细胞治疗儿童肿瘤的临床研究进展

倪亚茹 综述 徐晓军 汤永民 审校

(浙江大学医学院附属儿童医院血液肿瘤科, 浙江 杭州 310003)

**[摘要]** 儿童肿瘤患者的 5 年生存率已达 80% 以上, 但仍有部分复发难治性肿瘤通过传统治疗手段难以取得理想疗效。嵌合抗原受体 (CAR)-T 细胞技术的发展为治愈这些肿瘤带来了希望。CAR-T 细胞通过非 MHC 限制性的方式识别肿瘤相关抗原, 抗肿瘤能力显著增强, 目前已发展到第四代。靶向 CD19 的 CAR-T 细胞治疗复发难治性急性淋巴细胞白血病缓解率高达 90%, 且可以通过桥接造血干细胞移植、供者 CAR-T 细胞输注等手段辅助白血病的治疗。实体瘤方面, 靶向 GD2 的 CAR-T 细胞治疗神经母细胞瘤具有良好的反应性, 但对其他实体瘤效果欠佳。CAR-T 细胞治疗可能出现细胞因子释放综合征、脱靶效应、肿瘤溶解综合征、插入突变等毒副作用。靶向 CD19 的 CAR-T 细胞治疗虽有很高的缓解率, 但复发率较高, 包括 CD19<sup>+</sup> 和 CD19<sup>-</sup> 复发, 其机制尚需进一步研究。 [中国当代儿科杂志, 2017, 19(11): 1219-1224]

**[关键词]** 嵌合抗原受体; 肿瘤; 白血病; 免疫治疗; 儿童

### Progress in clinical studies of chimeric antigen receptor engineered T cells for treatment of childhood cancer

NI Ya-Ru, XU Xiao-Jun, TANG Yong-Min. Department of Hematology-Oncology, Children's Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China (Email: medico-xxj@163.com)

**Abstract:** Nowadays, the 5-year survival rate of childhood cancer patients can be more than 80%, but some patients with relapse and refractory cancers have shown no good response to traditional strategies. Chimeric antigen receptor engineered T (CAR-T) cell therapy is promising for these patients. CAR-T cells recognize the tumor-associated antigens in a non-major histocompatibility complex-restricted manner, so their anti-tumor ability is enhanced. There are four generations of CAR-T cells now. The complete remission rate of pediatric patients with relapse and refractory acute lymphoblastic leukemia can be as high as 90% when treated with CD19-targeting CAR-T cells. Furthermore, CAR-T cell therapy can also be used to bridge to transplantation and donor CAR-T cell infusion can be a strategy to prevent relapse after hematopoietic stem cell transplantation. As to solid tumors, only patients with neuroblastoma present good response to the GD2-targeting CAR-T cell therapy. The toxic or side effects of CAR-T cell therapy include cytokine release syndrome, off-tumor effect, tumor lysis syndrome, and insertion mutation. Although the CD19-targeting CAR-T cell therapy for childhood cancer can result in a high remission rate, the relapse rate is high, including CD19<sup>+</sup> and CD19<sup>-</sup> relapse. The mechanisms for relapse merit further investigation. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(11): 1219-1224]

**Key words:** Chimeric antigen receptor; Cancer; Leukemia; Immunotherapy; Child

近 40 年儿童肿瘤治疗取得了显著进展, 根据美国 2017 年最新统计数据, 14 岁以下肿瘤患儿的 5 年生存率为 83.0%, 其中急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL)、淋巴瘤患儿的 5 年生存率超过 90%<sup>[1]</sup>。但仍有部分复发难治的患儿通过传统治疗手段难以取得理想疗效, 肿瘤

免疫治疗的发展为这些儿童的生存带来了福音。免疫治疗是通过诱导、增强或抑制机体免疫应答来治疗疾病的策略, 该理念的诞生可以追溯到 20 世纪初<sup>[2]</sup>。经过 100 多年的发展, 肿瘤免疫治疗已经成为目前发展最快的研究领域之一。2013 年美国《科学》杂志将肿瘤免疫治疗列为十大科学突

[收稿日期] 2017-07-15; [接受日期] 2017-08-21

[基金项目] 浙江省自然科学基金 (LY15H080004)。

[作者简介] 倪亚茹, 女, 硕士研究生。

破之首，尤其以免疫检测点抑制剂、嵌合抗原受体-T (CAR-T) 细胞治疗发展最为迅猛<sup>[3]</sup>。截止到2017年10月，美国 clinicaltrials.gov 网站注册登记的基于 CAR 技术的临床试验 235 项，其中中国 115 项，表明国内 CAR-T 细胞的临床研究呈井喷之势，但也面临诸多问题。本文就 CAR-T 细胞在儿童肿瘤治疗应用中的最新进展做一综述。

## 1 CAR-T 细胞的基本结构及原理

经典 CAR 的基本原理是通过基因工程技术将单链抗体的抗原结合位点基因序列与淋巴细胞免疫受体的胞内区序列拼接后转导到免疫细胞内，并表达融合蛋白，使淋巴细胞能通过非 MHC 限制性的方式识别肿瘤相关抗原，增强其识别和杀伤肿瘤细胞的能力。CAR 的基本骨架包括胞外区、跨膜区和胞内区三部分。胞外区主要指抗体的单链可变区序列 (scFv)，抑或信号肽、细胞因子、膜受体的胞外区等；胞内区为信号转导域，主要是 TCR/CD3 的  $\zeta$  链、免疫球蛋白 Fc $\epsilon$ R I 的  $\gamma$  链或 CD3- $\epsilon$  链；而跨膜区可来源于同一分子或为 1 型跨膜蛋白，如 CD4、CD8 或 CD28。随着技术的不断进步，CAR 的设计也在上述基本结构的基础上不断发展，目前至少有四代 CAR<sup>[4-5]</sup>。第一代 CAR 设计的信号域是单一的信号分子，由于缺乏有力的“第二信号”，抗肿瘤效果有限。第二代 CAR 将共刺激分子 (如 CD28、4-1BB、OX40、ICOS 等) 的胞内域重组到基本骨架中，这样在 CAR 识别肿瘤抗原后，能同时活化共刺激分子和胞内信号域，提供双重活化信号，增强 CAR 的功能。第三代 CAR 主要是整合 2 个以上的共刺激分子以期望能进一步增强 T 细胞的活化，使其杀伤活性加强。第四代 CAR 是在 CAR 之外整合其他元素，如诱导性自杀基因或诱导性的细胞因子，以进一步调控 CAR-T 细胞的功能<sup>[4]</sup>。

## 2 CAR-T 细胞治疗儿童血液肿瘤的进展

自从费城儿童医院 (Children's Hospital of Philadelphia, CHOP) 2011 年采用 CAR-T 细胞技术成功治疗第一例儿童 ALL 以来，基于该技术的临床研究如火如荼<sup>[6]</sup>。2014 年 10 月，《新英格

兰医学杂志》和《柳叶刀》杂志分别刊发了来自 CHOP 和美国癌症研究院 (NCI) 的采用靶向 CD19 CAR-T 细胞治疗儿童、青少年复发难治性 ALL 的研究，CHOP 的结果显示 CAR-T 细胞治疗的完全缓解 (complete response, CR) 率可高达 90%，6 个月无事件生存率为 67%；NCI 的 CR 率为 70%，MRD 转阴患儿 4.8 个月的无事件生存率为 78.8%<sup>[7-8]</sup>。最近，西雅图儿童医院报道了采用靶向 CD19 CAR-T 细胞治疗 45 例儿童 ALL 的结果，MRD 转阴率达到 93%<sup>[9]</sup>。靶向 CD19 的 CAR-T 细胞治疗对于成人复发难治 ALL 的完全缓解率也在 80% 以上<sup>[10]</sup>。CAR-T 细胞对于复发难治性 ALL，其中一半左右为造血干细胞移植后复发的患者，能够取得如此高的缓解率，令血液肿瘤界备受鼓舞。

CAR-T 细胞治疗效果与其体内存在的时间、扩增水平及产生的细胞因子水平高低有关<sup>[11]</sup>。虽然 CAR-T 细胞治疗能取得很高的缓解率，但复发仍然为临床医生所担忧。因此，许多研究并未将 CAR-T 细胞列为最终的治疗方案，而是作为桥接移植的手段。对于通过普通化疗难以获得 CR 的患者，CAR-T 细胞治疗缓解后尽快进行异基因造血干细胞移植已经成为一种重要的模式<sup>[12]</sup>。其主要的优点包括：(1) 减少 CAR-T 细胞治疗后的复发；(2) CAR-T 细胞治疗可使白血病患者微小残留病 (minimal residual disease, MRD) 转阴，因此降低移植后的复发率<sup>[13]</sup>。

供者淋巴细胞输注 (donor lymphocyte infusion, DLI) 已经成为预防白血病移植后复发的重要手段。在 CAR-T 细胞治疗成功后，科学家利用供者淋巴细胞制备 CAR-T 细胞输注到受者体内，结果表明，与普通 DLI 相比，供者 CAR-T 细胞输注所需的细胞量通常为 DLI 细胞量的 1/10；CAR-T 细胞输注不引起 GVHD；而且 DLI 无效者，联合 CAR-T 细胞输注能取得较好的缓解率<sup>[14-16]</sup>。因此，供者 CAR-T 细胞输注也是有前景的预防白血病移植后复发的手段。

除 CD19 之外，其他用于 CAR-T 细胞治疗的白血病细胞靶点包括 CD22、CD20、ROR1、Ig $\kappa$ 、CD123、CD33、LeY 等。CD22 限制性表达于 B 淋巴细胞，是治疗 B 系 ALL 的重要靶点。美国 NCI 利用靶向 CD22 的 CAR-T 细胞治疗 11 例经历过靶向 CD19 的 CAR-T 细胞治疗但 CD19<sup>-</sup> 复发的

ALL, 总体缓解率达到80%<sup>[17]</sup>。解放军总医院曾报到1例采用靶向CD33的CAR-T细胞治疗成人急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML), 具有一定的反应性<sup>[18]</sup>。澳大利亚学者采用靶向LeY的CAR-T细胞治疗4例高危AML患者, 其中2例好转(1例幼稚细胞减少, 1例遗传学缓解), 但数月后病情再次进展<sup>[19]</sup>。CD123高表达于白血病起始细胞, 是白血病干细胞的标记, 靶向CD19和CD123联合可消除由于CD19抗原丢失引起的白血病细胞免疫逃逸<sup>[20]</sup>。但总体而言, 目前CAR-T细胞治疗白血病的临床研究主要集中于CD19靶点。因此, 其他靶点的安全性及有效性还需要积累更多的病例。

淋巴瘤是儿童第三大肿瘤, 5年长期生存率在70%~90%。但复发非霍奇金淋巴瘤的5年无事件生存率仅30%左右<sup>[21]</sup>。以CD20单抗为代表的免疫治疗对于提高淋巴瘤的长期生存发挥了重要作用。目前, 许多中心也在开展利用CAR-T细胞治疗恶性淋巴瘤的临床研究, 靶点包括CD19、CD20、CD22、CD30和免疫球蛋白κ链等。但采用CAR-T细胞治疗儿童淋巴瘤的报道甚少, 而成人淋巴瘤的效果也并非令人鼓舞。Ramos等<sup>[22]</sup>分析了9项利用靶向CD19的CAR-T细胞治疗成人淋巴瘤的临床研究, 共包括57例病例, 其中2例死亡、2例不能评估、12例完全缓解、14例部分缓解、13例疾病稳定、14例无反应, 缓解率在50%左右。这9项研究中最好的结果来自于Kochenderfer等<sup>[23]</sup>的报道, 15例中8例完全缓解、4例部分缓解。一项来自中国解放军总医院的利用靶向CD30的CAR-T细胞治疗复发难治霍奇金淋巴瘤的临床研究显示, 18例患者7例获得部分缓解, 6例疾病稳定<sup>[24]</sup>。综上可知, 即使是针对同样的靶点, CAR-T细胞治疗淋巴瘤的疗效不及白血病。

值得一提的是, CAR-T细胞在治疗过程中会出现耗竭, 表现为PD-1、Tim3等表达增加以及细胞因子分泌及抗肿瘤能力下降<sup>[25-26]</sup>。耗竭使体内的CAR-T细胞过早地消失, 缺少免疫监视功能, 导致肿瘤复发。针对免疫检测点的分子及其信号通路靶向干预是逆转CAR-T细胞耗竭的重要手段。近期研究表明, 敲除PD-1基因可明显增强CAR-T细胞的扩增能力和体内外抗肿瘤作用<sup>[25,27-28]</sup>。另外, 已有将PD-1抗体与CAR-T细胞相结合治疗淋巴

瘤的报道, 明显提高对CAR-T的治疗反应<sup>[29]</sup>。因此, CAR-T细胞联合免疫检测点抑制剂可能是提高CAR-T细胞疗效的研究方向。

### 3 CAR-T细胞治疗儿童实体肿瘤的进展

CAR-T细胞在实体瘤的应用进展较为缓慢, 目前正在开展临床研究的实体肿瘤包括肝癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、直肠癌、间皮瘤、黑色素瘤、胶质瘤、神经母细胞瘤等, 具体靶点包括CD133、CD171、HER2、CEA、GD2、IL12Rα等<sup>[30]</sup>。而这些研究主要在成人开展, 并未有较为满意的疗效报道。在儿童方面, 以靶向GD2的CAR-T细胞治疗复发难治性神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)研究最为深入。德克萨斯儿童医院采用自体活化T细胞或EB病毒特异性T细胞制备的第一代靶向GD2的CAR-T细胞治疗NB, 一半左右的病例出现肿瘤坏死或缓解, 27%的具有活动性病灶的患儿在靶向GD2的CAR-T细胞输注后获得完全缓解<sup>[31-32]</sup>。值得注意的是, 该研究采用的是第一代CAR, 其抗肿瘤活性、体内扩增能力均不及第二和第三代CAR。因此, 采用第二或第三代CAR-T细胞治疗NB可能取得更大的成功。目前多项第三代靶向GD2的CAR-T细胞治疗NB的相关临床研究正在进行<sup>[2]</sup>。

IL-13Rα表达于神经胶质瘤和成神经管细胞瘤, 可作为潜在的治疗靶点。表达膜偶联IL-13的CAR-T细胞可以靶向神经胶质瘤表面的IL-13Rα而发挥抗肿瘤作用, 正在进行相关的I期临床研究, 已经完成的3例多形性神经胶质瘤病例获得了一定的治疗反应<sup>[33]</sup>。EGFRv III表达于神经胶质瘤, 有研究采用同时靶向IL-13Rα和EGFRv III的CAR治疗高度恶性的神经胶质瘤<sup>[34]</sup>。

总之, 相比于血液系统肿瘤, CAR-T细胞治疗在实体瘤未有明显的突破, 可能与以下因素有关<sup>[35]</sup>: (1) CAR-T细胞能否顺利迁移到肿瘤部位受诸多趋化因子的调控; (2) 即使CAR-T细胞达到肿瘤部位, 肿瘤微环境中的调节性T细胞、骨髓源性的抑制细胞、抑制性细胞因子等可能使CAR-T细胞发生耗竭或免疫耐受; (3) CAR-T细胞不能穿透血管达到肿瘤内部, 所以CAR-T细胞消灭实体瘤的过程相对较长, 容易耗竭。因此,

CAR-T 细胞治疗实体瘤要想取得理想效果，需要与其他手段联合，如各种趋化因子、抑制肿瘤微环境负向调控等。

#### 4 CAR-T 细胞治疗的毒副作用

虽然有少数关于 CAR-T 细胞治疗过程中出现死亡报道<sup>[36-37]</sup>，但绝大多数的临床研究显示 CAR-T 细胞输注的安全性良好，大部分患者能够耐受。综合目前临床研究的结果，CAR-T 细胞治疗的主要毒副作用有以下几方面：

##### 4.1 细胞因子释放综合征

细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS) 是 CAR-T 细胞在体内增殖活化后释放大量细胞因子，如 IL-2、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  等，引起发热、呕吐、头痛、心动过速、低血压、皮疹及呼吸困难等表现<sup>[38]</sup>。CRS 是 CAR-T 细胞治疗过程中的常见并发症，见于 75%~100% 的患者，严重者危及生命<sup>[39]</sup>。CRS 通常发生于 CAR-T 细胞输注后的 1~14 天，发热是首表现，严重者可以发生毛细血管渗漏综合征，出现呼吸衰竭及休克；中枢神经系统受累还可出现脑水肿及抽搐等表现。CRS 的严重程度与肿瘤负荷、CAR-T 细胞输注量及预处理强度有关<sup>[38]</sup>。治疗前的肿瘤减负治疗、剂量递增的 CAR-T 细胞输注策略可以预防 CRS 的发生或减轻毒性反应<sup>[39]</sup>。CAR-T 细胞治疗的 CRS 细胞因子谱与噬血细胞综合征的细胞因子谱相似，细胞因子水平可以预测 CRS 的严重程度<sup>[40-41]</sup>。针对 IL-6 等细胞因子目前主要采用 IL-6 受体拮抗剂雅美罗治疗，仍不能控制者可加用糖皮质激素<sup>[39-40]</sup>。同时，积极的对症支持治疗对于挽救患者生命至关重要，严重者需要血管活性药物、呼吸机支持治疗。

##### 4.2 脱靶效应

若 CAR 所靶向的抗原不仅表达于肿瘤细胞，也表达于正常组织，则 CAR-T 细胞将同时攻击正常组织，造成组织脏器损伤、自身免疫性疾病或免疫缺陷。如靶向 CD19 的 CAR-T 细胞治疗可以引起正常 B 细胞的缺失，造成继发性低丙种球蛋白血症<sup>[42]</sup>；靶向 CD33 的 CAR-T 细胞治疗可引起肝脏毒性（肝枯否细胞表达 CD33）<sup>[18]</sup>。因此，在采用该手段治疗时，应尽量研发和采用特异性强

的抗体。目前也有诸多办法防止 CAR-T 细胞因为脱靶效应导致的损伤，包括设计抑制性 CAR、双受体识别 CAR、设置调控开关、插入自杀基因、通过抗体手段清除 CAR-T 细胞等<sup>[43]</sup>。

##### 4.3 肿瘤溶解综合征

肿瘤溶解综合征是 CAR-T 细胞输注后肿瘤细胞快速溶解后细胞内各种电解质离子、核酸、蛋白质及其代谢产物突然释放入血并超过机体的自身稳定机制所引起的代谢紊乱综合征。最多见于血液系统恶性肿瘤，发生率可达到 10% 左右，可导致急性肾功能衰竭甚至死亡<sup>[44]</sup>。

##### 4.4 插入突变

目前许多研究中心采用慢病毒或逆转录病毒制备 CAR-T 细胞，该技术将外源性基因序列整合到 T 细胞内，理论上可使正常基因突变，导致肿瘤发生。虽然基因修饰的造血干细胞输注在治疗严重联合免疫缺陷病患者有发生白血病的报道<sup>[45]</sup>，但目前 CAR-T 细胞治疗尚未见类似报道，认为采用成熟 T 细胞为载体导致细胞突变的机会低<sup>[46]</sup>。

#### 5 CAR-T 细胞治疗后的复发

CAR-T 细胞治疗虽有很高的肿瘤缓解率，但仍有超过三分之一的患者可复发。以靶向 CD19 的 CAR-T 细胞治疗为例，费城儿童医院 59 例复发难治 ALL 患儿采用第二代 4-1BB CAR-T19 治疗后，93% 的患儿达到缓解，88% 的患儿 MRD 转阴；1 年后，34 例患儿持续缓解（其中 6 例进行了后续治疗），20 例患儿复发（13 例为 CD19<sup>-</sup> 复发）<sup>[47]</sup>。西雅图儿童医院治疗 45 例儿童 ALL，MRD 转阴率达 93%，但复发率高达 45%，复发病例中 39% 为 CD19<sup>-</sup> 复发<sup>[9]</sup>。CD19<sup>+</sup> 复发主要与体内 CAR-T 细胞的耗竭、消失及功能下降有关，而 CD19<sup>-</sup> 的复发则与肿瘤抗原存在多种异构体、肿瘤细胞本身的多克隆性有关<sup>[48-49]</sup>，相关机制需进一步研究。如何减少 CAR-T 细胞治疗后的复发是该领域的一大挑战。为了降低复发率，许多中心在 CAR-T 细胞治疗后为患者进一步进行异基因造血干细胞移植。

#### 6 结语

儿童肿瘤的治疗虽然成绩喜人，但复发难治

性肿瘤的化疗及移植效果仍不尽人意，尤其是转移性肉瘤、脑瘤等实体肿瘤治疗进展缓慢。CAR-T细胞治疗的兴起为这些患儿带来了希望。2017年7月，诺华公司的CAR-T细胞CTL019成为首个被美国FDA批准的产品，用于儿童及青少年白血病治疗。从目前临床研究的结果看，CAR-T细胞治疗是一项非常具有前景的治疗手段，已经在血液肿瘤领域取得了巨大成功，但在儿童实体瘤方面进展不大。CAR-T细胞治疗要成为主流的肿瘤治疗手段，还需要进一步深入研究，寻找新的肿瘤特异性抗原、研发安全高效的CAR、克服CAR-T细胞治疗后的复发是今后的研究重点。同时，CAR-T细胞联合其他手段，如免疫监测点抑制剂，也可能是今后发展的方向。

#### [参 考 文 献]

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] Anderson J. Unleashing the immune response against childhood solid cancers[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2017, 64(10). doi: 10.1002/pbc.26548.
- [3] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2013, 342(6165): 1432-1433.
- [4] Chmielewski M, Abken H. TRUCKs: the fourth generation of CARs[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15(8): 1145-1154.
- [5] Batlevi CL, Matsuki E, Brentjens RJ, et al. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(1): 25-40.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] Gardner RA, Finney O, Annesley C, et al. Intent-to-treat leukemia remission by CD19 CAR T cells of defined formulation and dose in children and young adults[J]. *Blood*, 2017, 129(25): 3322-3331.
- [10] Luskin MR, DeAngelo DJ. Chimeric antigen receptor therapy in acute lymphoblastic leukemia clinical practice[J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2017, doi: 10.1007/s11899-017-0394-x.
- [11] 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.
- [12] 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): 177ra138.
- [13] Lussana F, Intermeoli T, Gianni F, et al. Achieving molecular remission before allogeneic stem cell transplantation in adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Impact on relapse and long-term outcome[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016, 22(11): 1983-1987.
- [14] 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.
- [15] Cruz CR, Micklethwaite KP, Savoldo B, et al. Infusion of donor-derived CD19-redirected virus-specific T cells for B-cell malignancies relapsed after allogeneic stem cell transplant: a phase 1 study[J]. *Blood*, 2013, 122(17): 2965-2973.
- [16] Brudno JN, Somerville RP, Shi V, et al. Allogeneic T cells that express an anti-CD19 chimeric antigen receptor induce remissions of B-cell malignancies that progress after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation without causing graft-versus-host disease[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(10): 1112-1121.
- [17] Anti-CD22 CAR therapy leads to all remissions[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(2): 120.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] Erker C, Harker-Murray P, Burke MJ. Emerging immunotherapy in pediatric lymphoma[J]. *Future Oncol*, 2016, 12(2): 257-270.
- [22] Ramos CA, Heslop HE, Brenner MK. CAR-T Cell therapy for lymphoma[J]. *Annu Rev Med*, 2016, 67: 165-183.
- [23] 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.
- [24] Wang CM, Wu ZQ, Wang Y, et al. Autologous T cells expressing CD30 chimeric antigen receptors for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: An open-label phase I trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(5): 1156-1166.
- [25] Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection[J]. *Nature*, 2017, 543(7643): 113-117.
- [26] Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, et al. Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(8): 3130-3144.
- [27] Liu X, Zhang Y, Cheng C, et al. CRISPR-Cas9-mediated multiplex gene editing in CAR-T cells[J]. *Cell Res*, 2017, 27 (1):

- 154-157.
- [28] Ren J, Liu X, Fang C, et al. Multiplex genome editing to generate universal CAR T cells resistant to PD1 inhibition[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9): 2255-2266.
- [29] Chong EA, Melenhorst JJ, Lacey SF, et al. PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells: refueling the CAR[J]. *Blood*, 2017, 129(8): 1039-1041.
- [30] Xia AL, Wang XC, Lu YJ, et al. Chimeric-antigen receptor T (CAR-T) cell therapy for solid tumors: challenges and opportunities[J]. *Oncotarget*, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.19361.
- [31] Pule MA, Savoldo B, Myers GD, et al. Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma[J]. *Nat Med*, 2008, 14(11): 1264-1270.
- [32] Louis CU, Savoldo B, Dotti G, et al. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma[J]. *Blood*, 2011, 118(23): 6050-6056.
- [33] Brown CE, Badie B, Barish ME, et al. Bioactivity and Safety of IL13Ralpha2-redirceted chimeric antigen receptor CD8<sup>+</sup> T cells in patients with recurrent glioblastoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(18): 4062-4072.
- [34] Morgan RA, Johnson LA, Davis JL, et al. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRvIII and development of adoptive cell therapy for glioma[J]. *Hum Gene Ther*, 2012, 23(10): 1043-1053.
- [35] Irving M, Vuillefroy de Silly R, Scholten K, et al. Engineering chimeric antigen receptor T-Cells for racing in solid tumors: Don't forget the fuel[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 267.
- [36] Brentjens R, Yeh R, Bernal Y, et al. Treatment of chronic lymphocytic leukemia with genetically targeted autologous T cells: case report of an unforeseen adverse event in a phase I clinical trial[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 666-668.
- [37] 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.
- [38] Xu XJ, Tang YM. Cytokine release syndrome in cancer immunotherapy with chimeric antigen receptor engineered T cells[J]. *Cancer Lett*, 2014, 343(2): 172-178.
- [39] Frey NV, Porter DL. Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2016, 2016(1): 567-572.
- [40] Teachey DT, Lacey SF, Shaw PA, et al. Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(6): 664-679.
- [41] Xu XJ, Tang YM, Song H, et al. Diagnostic accuracy of a specific cytokine pattern in hemophagocytic lymphohistiocytosis in children[J]. *J Pediatr*, 2012, 160(6): 984-990.e1.
- [42] 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.
- [43] Gross G, Eshhar Z. Therapeutic potential of T cell chimeric antigen receptors (CARs) in cancer treatment: Counteracting off-tumor toxicities for safe CAR T cell therapy[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, 56: 59-83.
- [44] Howard SC, Trifilio S, Gregory TK, et al. Tumor lysis syndrome in the era of novel and targeted agents in patients with hematologic malignancies: a systematic review[J]. *Ann Hematol*, 2016, 95(4): 563-573.
- [45] Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A, Wang GP, et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(9): 3132-3142.
- [46] Newrzela S, Cornils K, Li Z, et al. Resistance of mature T cells to oncogene transformation[J]. *Blood*, 2008, 112(6): 2278-2286.
- [47] Maude SL, Teachey DT, Rheingold SR, et al. Sustained remissions with CD19-specific chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells in children with relapsed/refractory ALL[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(15): 3011.
- [48] Ruella M, Maus MV. Catch me if you can: Leukemia escape after CD19-Directed T Cell Immunotherapies[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2016, 14: 357-362.
- [49] Fischer J, Paret C, El Malki K, et al. CD19 isoforms enabling resistance to CART-19 immunotherapy are Expressed in B-ALL patients at initial diagnosis[J]. *J Immunother*, 2017, 40(5): 187-195.

( 本文编辑: 俞燕 )