

CAR-T疗法及其在肿瘤免疫治疗中的应用进展

林才瑶 Muhammad Kalim 梁可莹 詹金彪*

(浙江大学医学院生物化学与遗传学系, 杭州 310058)

摘要 嵌合抗原受体T(chimeric antigen receptor T, TCAR-T)细胞免疫疗法是通过赋予T细胞非HLA依赖性的方式来识别肿瘤抗原能力的, 改造的T细胞相较于天然T细胞表面受体TCR能够识别更广泛的靶标。在急性白血病和非霍奇金淋巴瘤的治疗上取得了显著的疗效。最近, 包括诺华公司的CTL019在内多个CAR-T产品被FDA批准上市。近几年, CAR-T疗法在脑胶质瘤、前列腺癌、肺癌等实体瘤方面的研究也取得了巨大的进展, 被认为是最有前景的肿瘤治疗方式之一。该文主要就CAR-T的发展、临床应用及其面临的挑战与未来的发展方向作一综述。

关键词 CAR-T; 白血病; 实体瘤; 免疫治疗

Advances of CAR-T Immunotherapy for Cancer

Lin Caiyao, Muhammad Kalim, Liang Keying, Zhan Jinbiao*

(Department of Biochemistry and Genetics, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

Abstract Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cell immunotherapy is a method for engineering recombinant immunoreceptor based on an antibody-derived fragment which endows T cells with the ability to recognize specifically tumor-associated antigens (TAA) with independence of the expression of major histocompatibility complex (MHC) molecules. Clinical trials of CAR-T cells therapy for relapsed or refractory B cell malignancies have demonstrated impressive results. As a milestone, recently a Novartis product—CTL019 is approved by the US FDA for such malignancies. Besides the blood malignancies, CAR-T immunotherapy in treatment of glioblastoma, prostate cancer NSCLC, and other solid tumors also made progress. The immunotherapy is becoming one of the most promising cancer therapy. In this article, we focus on the major challenges in the further development and strategies for increasing anti-tumor activity and safety.

Keywords CAR-T; B-ALL; tumor; immunotherapy

癌症是全球人类所共同面临的公共卫生问题。多年来, 癌症治疗主要为手术治疗与放化疗, 但这些传统的治疗手段有一定的局限性, 通常疗效不佳, 且其副作用还会严重影响患者的生活质量。肿瘤免疫治疗则是一种利用免疫系统的固有活性来控制 and 消除肿瘤细胞而不攻击正常细胞的疗法。19世纪中期, 德国著名病理学家Rudolf Virchow观察

到肿瘤组织中免疫细胞浸润提出了肿瘤免疫的概念^[1]。随着近代肿瘤学、免疫学以及分子生物学等相关学科迅速发展, 正常机体的免疫监视功能和肿瘤细胞的免疫逃逸被逐渐揭示, 肿瘤免疫治疗开始兴起, 为肿瘤治疗带来新的希望。肿瘤免疫治疗在2013年被*Science*评为年度十大科技突破之首。肿瘤免疫治疗包括细胞因子调控、免疫抑制点调控、过

收稿日期: 2017-09-25 接受日期: 2017-11-29

国家自然科学基金(批准号: 81430081)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-88208273, E-mail: jzhan2k@zju.edu.cn

Received: September 25, 2017 Accepted: November 29, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81430081)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88208273, E-mail: jzhan2k@zju.edu.cn

网络出版时间: 2018-03-09 17:04:35

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180309.1704.026.html>

继性细胞回输、肿瘤疫苗等方法。其中,嵌合抗原受体T(chimeric antigen receptor T, CAR-T)细胞免疫疗法是最有前景的治疗方案。2017年7月, FDA肿瘤药物咨询委员会以10:0的投票结果一致推荐批准诺华公司的CAR-T细胞产品CTL019用于治疗复发或难治性儿童和年轻成人B急性淋巴细胞白血病(R/R B-acute lymphoblastic leukemia, R/R B-ALL)。8月30日, FDA提前一个月正式批准了诺华公司的CAR-T细胞产品Kymriah上市。

细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell, CTL)是目前认为唯一具有靶向杀伤作用的淋巴细胞。CTL识别肿瘤抗原受到人类白细胞抗原分子(human leukocyte antigen, HLA)的限制, 由于肿瘤细胞HLA分子表达的下调以及免疫抑制的肿瘤微环境, 使得CTL很难活化而无法清除肿瘤细胞。CAR-T细胞的优势如下: (1)改造的CAR-T细胞识别肿瘤过程不受MHC的限制, 以HLA非依赖的方式识别肿瘤抗原, 跨越HLA表达下调机制识别与杀伤肿瘤细胞; (2)CAR利用抗体的多样性, 不仅识别肿瘤表面的蛋白质抗原, 也能利用糖蛋白中聚糖和糖脂类抗原, 有更多的肿瘤抗原靶点可选; (3)CAR-T细胞可在体内存活较长时间, 发挥持续作用; (4)使用患者自身T细胞构建的CAR-T细胞降低了排异反应风险。

1 CAR-T的发展历程

CAR(chimeric antigen receptor)的结构由胞外结构域、跨膜结构域和胞内结构域三部分组成。胞外结构域由识别肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)的单克隆抗体(mAb)的ScFv片段和铰链组成, 连接到跨膜结构域上。胞内结构域则包含TCR复合物中的CD3 ζ 结构域免疫受体酪氨酸基活化模体(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM), 在识别肿瘤相关抗原后起到胞内信号转导作用。1989年, 以色列科学家Zelig Eshhar等^[2]提出把能与抗原相互识别的抗体和TCR的信号分子融合避开MHC的限制, 诱导T细胞特异性活化, 进而提出CAR的概念。自CAR-T的概念提出后的近30年研究中, CAR的结构在不断地优化。Zelig Eshhar提出的CAR被认为是第一代的CAR, 只含有一个胞内信号激活受体CD3 ζ 。T细胞的完全活化需要共刺激信号, 只有完全活化的T细胞才能进一步分泌细胞因子进而分化和增殖。Finney等^[3]先构建了结合激活和

共刺激信号分子的第二代CAR。第二代CAR增加了如CD28、41BB、OX40或者ICOS作为共刺激分子与CD3 ζ 相结合, 活化相关的信号通路如ERK p38、JNK和NF- κ B, 使T细胞在没有外源性共刺激分子的情况下也可以增殖^[4-5]。第三代CAR则结合了两个共刺激和激活信号。拥有两个共刺激信号的第三代CAR结构使T细胞能够分泌更多的细胞因子以及具有更强的肿瘤裂解能力^[6]。第四代CAR也称为TRUCK(T-cells redirected for universal cytokine killing), 被另外的可诱导细胞因子工程化, 可以在激活的同时表达调节抗肿瘤微环境的细胞因子(如IL-12)进而招募并活化更多的免疫细胞攻击肿瘤细胞, 并调节肿瘤微环境从而增强免疫反应^[7-8]。

2 CAR-T的临床应用

2.1 血液肿瘤

CAR-T细胞首先尝试用于治疗CD19阳性的血液病肿瘤, 包括复发难治性的B急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)和B细胞淋巴瘤(B-cell lymphomas)。CD19在大多数B细胞恶性肿瘤细胞高表达, 虽然在正常B细胞、滤泡状树突细胞和浆细胞中也有表达, 但在造血干细胞中无表达, 这使CD19成为一个很好的靶点^[9]。迄今为止, 已有超过30篇出版物和大量摘要报道了CAR-T细胞在血液恶性肿瘤中的临床试验^[10]。2010年, Rosenberg课题组^[11]率先发表了抗CD19-CAR-T细胞治疗的临床结果, 病人在接受CAR-T治疗后的39周内未检测到血液中的B细胞, 显示了强大的清除CD19阳性细胞的能力, 表明CD19-CAR-T有望是治疗B细胞恶性肿瘤的新方法。随后, June课题组应用CD19-CAR-T细胞(包含4-1BB和CD3 ζ)成功治疗了3例CLL患者。将低剂量的CAR-T细胞(1.5×10^5 /kg)注射到慢性淋巴细胞白血病(CLL)的患者中, 输注的CAR-T细胞可以在患者外周血和骨髓中大量存活, 相较于初始植入水平扩增效率最高达1 000倍, 并检测到CAR-T细胞在血液和骨髓中高水平持续6个月, 患者外周血和骨髓中B细胞缺失和低丙种球蛋白血症(预期的表达CD19正常B细胞缺失引起的慢性毒性作用)也在6个月以上。治疗后完全缓解(complete remission, CR)长达10个月, 其中2例患者在之后2年随访中仍处于完全缓解^[12]。2012年, Rosenberg课题组^[13]又报

道了使用CD19-CAR-T细胞治疗的8例B-ALL研究, 7例可评估患者中有6例获得了完全缓解。文章中报道了有4例患者CAR-T治疗过程中炎症细胞因子TNF与IFN γ 水平显著升高所带来的副作用^[13]。2014年, Maude等^[14]报道了30例(25名儿童和5名成人)患有复发难治性的B急性淋巴细胞白血病(R/R B-ALL)的扩大组CTL019治疗结果。在输注CTL019 1个月后, 30例患者中有27例患者达到完全缓解(90%)。治疗中, 所有患者都出现了细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS), 并应用抗白细胞介素-6受体抗体Tocilizumab应对在27%的患者中出现的严重细胞因子风暴。这次研究指出针对CD19的嵌合抗原受体修饰的T细胞能有效治疗复发性和难治性ALL, CD19-CAR-T细胞有望成为不符合干细胞移植的白血病患者替代治疗方案^[14]。2015年, Brentjens等^[15]公布了44例成年R/R B-ALL患者的临床数据, 43例可评估患者接受了CD19-28z-CAR-T细胞治疗, 36例(84%)完全缓解(complete remission, CR)。36例CR患者中有35例进行MRD分析, 其中29例(83%)达到微小残留MRD-CR。在B急性淋巴细胞白血病(B-ALL)中, 患者在接受抗CD19-CAR-T细胞治疗后, 缓解率为70%~90%。这些数据证实了抗CD19-CAR-T细胞在成人R/R B-ALL患者中的抗肿瘤功效。

其他类型的白血病, CAR-T细胞治疗的临床疗效不如R/R B-ALL。2015年, Kochenderfer等^[16]发现, 15例晚期B细胞恶性肿瘤患者(9例患者弥漫性大B细胞淋巴瘤、2例缓慢进展淋巴瘤、4例慢性淋巴细胞性白血病)输注抗CD19-CAR-T细胞治疗后, 8例达到完全缓解(CR), 4例达到部分缓解(partial remission, PR), 1例稳定(stable disease, SD)。美国国家癌症研究院(National Cancer Institute, NCI)在CD19靶向治疗B-NHL(B-non-Hodgkin lymphoma)的CAR-T细胞临床试验中显示, 累计36例可评估患者包括27例DLBCL(diffuse large B-cell lymphoma)患者显示ORR和CR率分别为78%和44%^[10]。

2.2 实体瘤

在血液性肿瘤中, CAR-T细胞具有肿瘤靶向性好、组织毒副作用低、淋巴系统对肿瘤无屏障作用及T细胞的归巢性等特点, 使CAR-T细胞治疗取得了很大成功。治疗实体肿瘤方面仍处于临床前研究, 主要原因是实体瘤缺乏特异性的TAA靶点、存在免疫抑制微环境以及CAR-T细胞难以归巢到肿瘤

位置等因素, 限制了其在实体肿瘤中的应用^[17]。关键是实体瘤缺少严格意义上的肿瘤特异性抗原, 肿瘤细胞表面高表达的抗原分子在正常的组织中往往也有表达。例如, ErbB家族中的表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)和HER2抗原, 临床上针对这两个抗原的西妥昔单抗和曲妥珠单抗往往会表现出皮肤毒性和心脏毒性, 原因是在上皮细胞和心肌细胞中也有EGFR和HER2的表达。这些靶点应用到CAR-T治疗时就需要更多安全性方面的考虑。虽然困难重重, 但CAR-T的实体瘤应用研究仍在快速发展。

双唾液酸神经节苷脂GD2(disialo ganglioside GD2)是在胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)中高表达的表面抗原^[18]。2011年, 19例神经母细胞瘤患者输注针对神经母细胞瘤肿瘤细胞表达的GD2抗原的抗GD2-CAR-T后, 3例患者达到完全缓解, 显示在治疗神经胶质瘤中有一定的抗肿瘤效果^[19]。IL13R α 2是单体高亲和力IL13受体, 在GBM中选择性表达, 而在周围的正常脑组织中不存在, 因此也能作为胶质瘤中CAR-T细胞治疗的靶点。2016年, 1例患有复发性胶质母细胞瘤(GBM)的患者在通过往颅内肿瘤切除位置输入靶向IL13R α 2的CAR-T细胞后, 发现其脑脊液中细胞因子和免疫细胞水平的相应增加, 颅内和脊柱中转移的肿瘤出现消退, 并持续了7.5个月^[20]。2016年, 对11例EGFR高阳性表达(>50%)的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者输注递增剂量的靶向EGFR的CAR-T细胞, 2例获得部分缓解(PR), 5例患者病情稳定。对实现PR或SD的患者的肿瘤组织免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检查表明, 治疗后EGFR阳性肿瘤细胞被根除以及在肿瘤浸润性T细胞中检测到抗EGFR CAR-T细胞^[21]。2016年, 1项临床I期研究结果显示, 化疗后用抗PSMA-CAR-T与IL-2辅助治疗6例前列腺癌患者, 其中2例患者获得部分缓解(PR), 检测到前列腺特异抗原(PSA)分别下降了50%和70%, 且预后检测无明显抗PSMA毒副反应^[22]。

3 CAR-T的毒副反应及对策

3.1 细胞因子释放综合征

细胞因子释放综合征是输入的CAR-T细胞接触到抗原后快速广泛激活并导致炎症细胞因子升高, 临床出现恶心、头痛、低血压、呼吸困难等症

状。CRS的频率和严重程度在不同的研究中有所不同。严重时大量细胞因子释放会引起全身强烈的炎症反应,造成全身器官功能紊乱甚至危及生命,称为“细胞因子风暴”^[23]。2010年,纪念斯隆-凯特琳癌症中心(Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, MSKCC)的Brentjens,给招募的第四名69岁难治性CLL患者输注抗CD19-28z-CAR-T细胞,20 h后受试者发热,发热持续存在并且伴随低血压、呼吸困难和肾衰竭综合征。受试者在给予环磷酰胺和CAR-T细胞治疗4天后死亡^[24]。目前在临床试验过程中应用妥珠单抗(IL-6特异性的单克隆抗体)来控制严重的CRS(severe CRS, sCRS)反应^[25]。

3.2 脱靶效应

这种类型的毒性是正常组织中低表达的靶标抗原同样被CAR-T细胞特异性识别攻击,取决于CAR-T细胞的抗原特异性。常见的脱靶效应是用抗CD19-CAR-T细胞治疗B-ALL的患者时B细胞由于CAR-T反应持续存在导致B细胞发育不良。幸运的是,血液瘤治疗中引起的B细胞缺失可以由注射丙种球蛋白代替^[26]。实体瘤中由于脱靶引起的毒性则要强很多,严重的可能会危及生命。2010年,NCI构建了基于曲妥珠单抗的抗HER2 CAR-T细胞,用于治疗HER2过表达肿瘤患者。不幸的是,在细胞输注后15 min内,患者出现呼吸困难,出现严重的细胞因子风暴,治疗5天后死于多器官功能衰竭^[9]。CAR-T细胞治疗应用到实体瘤中,解决脱靶所引起的安全性是关键。最根本的是找到特异性好的肿瘤表面相关抗原,但目前缺少严格意义上的TAA。科学家们试图用别的方法来控制CAR-T的激活。导入自杀基因是指在CAR内导入一个共表达的自杀基因,必要时激活自杀基因诱导CAR-T细胞凋亡,从而预防或治疗“脱靶效应”。目前主要应用的是单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-TK)和诱导型半胱天冬酶9(iCasp9)。HSV-TK使更昔洛韦磷酸化,磷酸化的产物作用于DNA聚合酶,引起链终止反应使细胞凋亡; iCasp9则通过与AP1903药物结合启动凋亡级联反应^[27]。另一个思路是设计2个肿瘤表面抗原,将T细胞活化所需的两个信号分别与一个抗原构建出2个独立的CAR,单个CAR识别与产生的信号不能完全活化T细胞,从而限制了T细胞活化。这种互补CAR可以将T细胞活化集中在肿瘤部位^[28-29]。其他方法还有通过电转将编码CAR的mRNA转入到T细胞中,使

CAR在T细胞呈暂时性表达,既降低了脱靶效应带来的毒性又解决了病毒载体转染带来的相关安全性问题^[30]。也有报道对患者给予G250mAb预处理,可有效预防“脱靶效应”损害的发生^[31]。

3.3 实体瘤CAR-T细胞归巢和免疫抑制肿瘤微环境

与白血病相比, CAR-T细胞在治疗实体瘤中的临床疗效不佳,归因于T细胞难以归巢到肿瘤部位和实体瘤高度免疫抑制微环境。肿瘤细胞能够利用多种途径抑制免疫细胞的活性,例如肿瘤抗原缺失、共刺激信号异常、主要组织相容性复合体(MHC)类分子表达低下、肿瘤分泌的免疫抑制因子(IL-10、TGF-B、IL-33等)以及肿瘤微环境中各种免疫抑制性细胞,使肿瘤微环境中的免疫系统处于耐受状态,导致患者自身的免疫应答常不能抑制肿瘤生长^[32]。T细胞的归巢可以通过改变T细胞输注途径,直接瘤内注射CAR-T细胞帮助T细胞到达肿瘤位置^[20]。而要改变肿瘤免疫抑制微环境则需要其他细胞因子的帮助,如将CAR-T细胞治疗与具有趋化因子RANTES和细胞因子IL-15的溶瘤病毒结合,RANTES和IL-15的肿瘤内释放能够吸引CAR-T细胞归巢并促进T细胞在肿瘤微环境存活^[33]。前文提到的第四代CAR结构能够共表达细胞因子如IL-12,能进一步提高CAR-T细胞功效和在肿瘤微环境中的持久性^[34]。

3.4 其他毒性

神经毒性症状从出现混乱、呆妄症状到失语、肥胖、肌阵挛和癫痫发作,这种综合征的病因仍不清楚。它经常伴随CRS,但也可以单独存在^[14]。肿瘤溶解综合征也是CAR-T细胞治疗过程中的严重并发症之一,由于CAR-T细胞强大的杀伤作用,肿瘤细胞的大量溶解,胞内物质快速释放进入血液,超过了肝脏代谢和肾脏排泄的能力,使代谢产物蓄积而引起高尿酸血症、代谢性酸中毒等一系列代谢紊乱,进而导致严重的心律失常或急性肾功能衰竭而危及生命^[35]。还有治疗后疾病复发的问题,很多患者在治疗前期的反应率很高,疗效也非常好,但是一段时间后就会病灶复发,其原因可能与CAR-T细胞在体内存活时间以及肿瘤干细胞有关。

4 展望

CAR-T细胞免疫治疗在血液系统肿瘤治疗中

获得了理想效果,但在实体肿瘤治疗中的疗效仍有待进一步提高。寻找特异性高的TAA是CAR-T发展的关键。此外,科学家们也通过其他方法来积极改善CAR-T疗法。主要包括以下四个方面的内容。第一,通过基因编辑如导入自杀基因或功能增强基因(第四代CAR)在可控的条件下诱导CAR-T细胞发挥抗肿瘤效应,根据需要增强其功能或诱导其凋亡。第二,将CAR-T细胞与其他疗法联合治疗也是未来的发展趋势。例如,放化疗或手术后再联合CAR-T细胞治疗以及结合其他肿瘤治疗方法;与免疫检查点抑制剂PD1/PDL1抗体联用以降低肿瘤细胞免疫逃逸^[36];与溶瘤病毒联合使用有效清除肿瘤细胞以及帮助T细胞归巢等。第三,通用型CAR-T疗法即U-CAR-T,应用到临床时由于个体差异性会导致制备出的细胞也不相同,有些病人的T细胞活性较差,难以制备功能性CAR-T,U-CAR-T通过敲除同种异体T细胞的MHC分子将CAR-T制成通用性“药物”。Qasim等^[37]通过TALEN技术编辑T细胞受体的 α 链和CD52基因位点来构建通用型CAR19(UCART19),成功使两名患有B-ALL的婴儿在第28天达到病情缓解。2017年2月7日,美国FDA批准了Collectis公司的UCART123,以CD123为靶点针对母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤的CAR-T疗法进入临床试验,两例患者中一例因严重的CRS死亡,另一例则达到CR。第四,通过构建ScFv与安全外源蛋白的Switch融合分子来调控CAR-T^[38-39]。总之,以CAR-T细胞为主线的免疫疗法,可望在肿瘤治疗领域发挥日益重要的作用,为肿瘤患者带来福音。

参考文献 (References)

- Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357(9255): 539-45.
- Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86(24): 10024-8.
- Filmus J, Church JG, Buick RN. Isolation of a cDNA corresponding to a developmentally regulated transcript in rat intestine. *Mol Cell Biol* 1988; 8(10): 4243-9.
- Croft M. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases. *Nat Rev Immunol* 2009; 9(4): 271-85.
- Jensen MC, Riddell SR. Design and implementation of adoptive therapy with chimeric antigen receptor-modified T cells. *Immunol Rev* 2014; 257(1): 127-44.
- Helmby H. Gastrointestinal nematode infection exacerbates malaria-induced liver pathology. *J Immunol* 2009; 182(9): 5663-71.
- Wagner HJ, Bollard CM, Vigouroux S, Huls MH, Anderson R, Prentice HG, *et al.* A strategy for treatment of Epstein-Barr virus-positive Hodgkin's disease by targeting interleukin 12 to the tumor environment using tumor antigen-specific T cells. *Cancer Gene Ther* 2004; 11(2): 81-91.
- Zhang L, Kerkar SP, Yu Z, Zheng Z, Yang S, Restifo NP, *et al.* Improving adoptive T cell therapy by targeting and controlling IL-12 expression to the tumor environment. *Mol Ther* 2011; 19(4): 751-9.
- Morgan RA, Yang JC, Kitano M, Dudley ME, Laurencot CM, Rosenberg SA. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther* 2010; 18(4): 843-51.
- Iadarola MJ, Sapio MR, Wang X, Carrero H, Virata-Theimer ML, Sarnovsky R, *et al.* Analgesia by deletion of spinal neurokinin 1 receptor expressing neurons using a bioengineered substance P-Pseudomonas exotoxin conjugate. *Mol Pain* 2017; doi: 10.1177/1744806917727657.
- Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, Dudley ME, Stetler-Stevenson M, Feldman SA, *et al.* Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood* 2010; 116(20): 4099-102.
- Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011; 365(8): 725-33.
- Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, Wilson WH, Spaner DE, Maric I, *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. *Blood* 2012; 119(12): 2709-20.
- Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(16): 1507-17.
- Park JH, Riviere I, Wang XY, Bernal Y, Purdon T, Halton E, *et al.* Implications of minimal residual disease negative complete remission (MRD-CR) and allogeneic stem cell transplant on safety and clinical outcome of CD19 targeted 19-28z CAR modified T cells in adult patients with relapsed, refractory B-cell ALL. *Blood* 2015; 126: 682.
- Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, Somerville RPT, Carpenter RO, Stetler-Stevenson M, *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 Clin Oncol* 2015; 33(6): 540-U31.
- Figueroa JA, Reidy A, Mirandola L, Trotter K, Suvorava N, Figueroa A, *et al.* Chimeric antigen receptor engineering: a right step in the evolution of adoptive cellular immunotherapy. *Int Rev Immunol* 2015; 34(2): 154-87.
- Pule MA, Savoldo B, Myers GD, Rossig C, Russell HV, Dotti G, *et al.* Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma. *Nat Med* 2008; 14(11): 1264-70.
- Louis CU, Savoldo B, Dotti G, Pule M, Yvon E, Myers GD, *et*

- al.* Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma. *Blood* 2011; 118(23): 6050-6.
- 20 Brown CE, Alizadeh D, Starr R, Weng L, Wagner JR, Naranjo A, *et al.* Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *N Engl J Med* 2016; 375(26): 2561-9.
- 21 Feng K, Guo Y, Dai H, Wang Y, Li X, Jia H, *et al.* Chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of patients with EGFR-expressing advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer. *Sci China Life Sci* 2016; 59(5): 468-79.
- 22 Junghans RP, Ma Q, Rathore R, Gomes EM, Bais AJ, Lo AS, *et al.* Phase I trial of anti-PSMA designer CAR-T cells in prostate cancer: Possible role for interacting interleukin 2-T cell pharmacodynamics as a determinant of clinical response. *Prostate* 2016; 76(14): 1257-70.
- 23 Lee DW, Gardner R, Porter DL, Louis CU, Ahmed N, Jensen M, *et al.* Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood* 2014; 124(2): 188-95.
- 24 Brentjens R, Yeh R, Bernal Y, Riviere I, Sadelain M. Treatment of chronic lymphocytic leukemia with genetically targeted autologous T cells: case report of an unforeseen adverse event in a phase I clinical trial. *Mol Ther* 2010; 18(4): 666-8.
- 25 Teachey DT, Rheingold SR, Maude SL, Zugmaier G, Barrett DM, Seif AE, *et al.* Cytokine release syndrome after blinatumomab treatment related to abnormal macrophage activation and ameliorated with cytokine-directed therapy. *Blood* 2013; 121(26): 5154-7.
- 26 Kalos M, Levine BL, Porter DL, Katz S, Grupp SA, Bagg A, *et al.* T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011; 3(95): 95ra73.
- 27 Jones BS, Lamb LS, Goldman F, Di Stasi A. Improving the safety of cell therapy products by suicide gene transfer. *Front Pharmacol* 2014; 5: 254.
- 28 Wilkie S, van Schalkwyk MC, Hobbs S, Davies DM, van der Stegen SJ, Pereira AC, *et al.* Dual targeting of ErbB2 and MUC1 in breast cancer using chimeric antigen receptors engineered to provide complementary signaling. *J Clin Immunol* 2012; 32(5): 1059-70.
- 29 Lanitis E, Poussin M, Klattenhoff AW, Song D, Sandaltzopoulos R, June CH, *et al.* Chimeric antigen receptor T Cells with dissociated signaling domains exhibit focused antitumor activity with reduced potential for toxicity *in vivo*. *Cancer Immunol Res* 2013; 1(1): 43-53.
- 30 Zhao Y, Moon E, Carpenito C, Paulos CM, Liu X, Brennan AL, *et al.* Multiple injections of electroporated autologous T cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor. *Cancer Res* 2010; 70(22): 9053-61.
- 31 Lamers CH, Klaver Y, Gratama JW, Sleijfer S, Debets R. Treatment of metastatic renal cell carcinoma (mRCC) with CAIX CAR-engineered T-cells-a completed study overview. *Biochem Soc Trans* 2016; 44(3): 951-9.
- 32 Joyce JA, Fearon DT. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science* 2015; 348(6230): 74-80.
- 33 Nishio N, Diaconu I, Liu H, Cerullo V, Caruana I, Hoyos V, *et al.* Armed oncolytic virus enhances immune functions of chimeric antigen receptor-modified T cells in solid tumors. *Cancer Res* 2014; 74(18): 5195-205.
- 34 Yeku OO, Brentjens RJ. Armored CAR T-cells: utilizing cytokines and pro-inflammatory ligands to enhance CAR T-cell anti-tumour efficacy. *Biochem Soc Trans* 2016; 44(2): 412-8.
- 35 Howard SC, Trifilio S, Gregory TK, Baxter N, McBride A. Tumor lysis syndrome in the era of novel and targeted agents in patients with hematologic malignancies: a systematic review. *Ann Hematol* 2016; 95(4): 563-73.
- 36 Kurose K, Ohue Y, Sato E, Yamauchi A, Eikawa S, Isobe M, *et al.* Increase in activated Treg in TIL in lung cancer and *in vitro* depletion of Treg by ADCC using an antihuman CCR4 mAb (KM2760). *J Thorac Oncol* 2015; 10(1): 74-83.
- 37 Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, Adams S, Amrolia P, Stafford S, *et al.* Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci Transl Med* 2017; doi: 10.1126/scitranslmed.aaj2013.
- 38 Ma JS, Kim JY, Kazane SA, Choi SH, Yun HY, Kim MS, *et al.* Versatile strategy for controlling the specificity and activity of engineered T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113(4): E450-8.
- 39 Cao Y, Rodgers DT, Du J, Ahmad I, Hampton EN, Ma JS, *et al.* Design of switchable chimeric antigen receptor T cells targeting breast cancer. *Angew Chem Int Ed Engl* 2016; 55(26): 7520-4.