



张毅教授, 主任医师、博士生导师、郑州大学第一附属医院生物细胞治疗中心主任, 河南省肿瘤免疫治疗工程研究中心和河南省肿瘤免疫和生物治疗重点实验室主任。承担多项国家自然科学基金(面上、国合和联合重点)、国家重点研发计划项目。发表学术论文220多篇, 发表在国际著名期刊 *Nature Cell Biology*、*J Clin Invest*、*Cancer Research*、*PLoS Pathogen*、*Oncogene*、*J Immunol*、*Oncoimmunology*、*Cancer Immunology Research* 等上论文共121篇。从事肿瘤免疫基础研究和临床应用三十多年, 主要研究方向为肿瘤微环境调控免疫效应细胞的相关机制、影响基因修饰T细胞(CAR-T和TCR-T细胞)分化和功能的分子机制、肿瘤免疫治疗新策略(靶向实体瘤的CAR-T细胞和新抗原应用等)的临床试验研究等。

http://fcc.zzu.edu.cn/newsss/vmsgisapi.dll/vonefun?fun=3a_s&id=S079

嵌合抗原受体T细胞治疗血液肿瘤的临床研究进展

轩玉静 李峰 张毅*

(郑州大学第一附属医院生物细胞治疗中心, 郑州 450052)

摘要 嵌合抗体受体(chimeric antigen receptor, CAR)是人工设计的序列, 由抗原结合序列和T细胞活化信号元件构成。表达CAR的T细胞(CAR-T)具有强大的抗原特异性杀伤活性。CAR-T细胞治疗在血液系统恶性肿瘤中取得了良好效果, 并被批准用于白血病和淋巴瘤的临床治疗。该文重点介绍了CD19特异性CAR-T细胞治疗B细胞白血病和淋巴瘤的临床研究进展, 期望通过阐述CAR结构发展和临床应用方案完善对CAR-T细胞治疗血液系统肿瘤的影响, 为提高CAR-T细胞治疗实体瘤的效果提供参考。

关键词 嵌合抗原受体; T细胞; 血液系统恶性肿瘤; 抗原; 临床试验

Advance in Clinical Trials on CAR-T Cell Therapy for Hematologic Malignancies

Xuan Yujing, Li Feng, Zhang Yi*

(Biotherapy Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract The designed CAR construct consists of extracellular scFv and intracellular co-stimulatory components and CD3 ζ signaling domain, can induce T cell activation in antigen-dependent manner. CAR-T cells have shown unprecedented effectiveness in tumors, especially in hematologic malignancies. Recently CD19-directed CAR-T cells have been approved to treat B cell malignancies in clinic. Here we briefly introduce the development of clinical trials in CAR-T cell therapy. We also provide information that how CAR constructs and therapeutic regimens affecting therapeutic efficacies, which may help upgrade the CAR constructs to better attack solid tumors.

Keywords chimeric antigen receptor; T cell; hematological malignancy; antigen; clinical trial

国家自然科学基金(批准号: 81171986、81271815、81502689)和科技部重大专项项目(批准号: 2016YFC1303501、2018YFC1313400)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0371-66295320, E-mail: yizhang@zzu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81171986, 81271815, 81502689) and the National Key Research and Development Program (Grant No.2016YFC1303501, 2018YFC1313400)

*Corresponding author. Tel: +86-371-66295320, E-mail: yizhang@zzu.edu.cn

网络出版时间: 2019-01-17 16:43:38

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190117.1643.018.html>

T细胞是介导人体抗肿瘤免疫反应的重要细胞亚群。多项临床研究证明, 肿瘤特异性T细胞输注治疗能够有效抑制肿瘤生长甚至清除肿瘤^[1-2]。因此, 获得肿瘤特异性T细胞并大量扩增后回输给患者是一种可行的肿瘤治疗策略。但是, T细胞识别靶抗原的复杂机制(例如MHC多样性、抗原表位多态性等)决定了难以获得足够量的用于培养扩增和治疗的肿瘤特异T细胞。随着基础免疫学和分子生物学的进步, 科学家发现, 将抗体识别区与T细胞活化信号分子的基本元件连接后能够诱发T细胞发生抗原特异性的活化与杀伤^[3-6]。这种人工设计的包含抗体识别区与T细胞活化基本构件的受体被称为嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR), 表达这种人工设计受体的T细胞被称为CAR-T细胞。除了能够通过CAR活化外, CAR-T细胞保留了原代T细胞的特性, 例如抗原依赖的活化和增殖能力、能够分化成记忆细胞、能够在体内长期存活等^[7-8]。另外, 利用病毒或其他系统能够在体外大量生产抗原特异性CAR-T细胞, 真正为抗原特异性T细胞输注治疗的大规模临床应用提供了可能。通过基础和临床工作人员多年的努力, 北美和欧洲先后批准了2种CAR-T细胞治疗药物进入临床, 用于治疗B细胞白血病和淋巴瘤^[8-9]。除了用于这两类疾病外, CAR-T细胞还被尝试用于其他血液系统恶性肿瘤和实体瘤的治疗。然而, CAR-T细胞治疗实体瘤的效果难以令人满意^[10-14]。因此, 本文主要介绍了CAR-T细胞发展历程、靶抗原对CAR-T细胞治疗的影响、CAR-T细胞治疗血液系统恶性肿瘤的临床试验结果以及存在的问题等。

1 CAR结构介绍

通常认为, CAR结构源于1989年的一篇文献报道^[15]。在该报道中, 研究者通过将抗体可变区与T

细胞受体(T cell receptor, TCR)C区连接, 从而促使T细胞发生非TCR依赖性的活化。该研究证明, 可以通过人工设计序列来操纵T细胞功能, 但是其设计与目前应用的CAR结构相去甚远。真正与现有CAR结构比较类似的设计源于Bryan Irving和Arthur Weiss^[3]的一篇报道。这项研究提出的CAR原型结构由CD8胞外区和跨膜区与CD3 ζ 胞内区构成(图1)。该结构证明, T细胞可绕过TCR而由CD3 ζ 直接活化^[3], 为后续CAR-T细胞的发展奠定了基础。在此基础上, CAR结构经历了四次升级, CAR-T细胞可也相应被分为四代(图1)^[16-19]。其中, 一代CAR的胞外区被替换为单链抗体(single chain variable fragment, scFv)。这种设计使得CAR-T细胞能够发挥抗原特异性杀伤功能^[5]。但是, 一代CAR-T细胞存在增殖能力较差、体内持续时间较短以及细胞因子分泌不足等问题。为了克服这些缺点, 二代CAR在胞内区加入了1个共刺激信号结构片段。共刺激信号结构来源于CD27、CD28、4-1BB、OX40等T细胞活化分子, 其中以CD28和4-1BB最为常用^[20-23]。相较于一代CAR-T细胞, 二代CAR-T细胞的功能与持续时间显著增强。然而, 不同共刺激信号分子对CAR-T细胞的影响不尽相同。CD28 CAR-T细胞分泌细胞因子的能力较强, 但是体内持续时间较4-1BB CAR-T细胞短^[24-26]。因此, 在三代CAR中, 胞内区增加为2个共刺激信号片段, 希望进一步提高CAR-T细胞功能和持续时间^[21,27]。但是, 多个信号结构的影响过于复杂, 信号结构域之间可能互相影响^[28]。因此, 还需对三代CAR-T细胞进行更多研究才能确定这些修饰是否能够真正改善T细胞功能。除了对CAR序列本身的修饰外, 科学家还尝试使CAR-T细胞表达促进T细胞功能的细胞因子(例如IL-12、IL-15和IL-18)^[29-31]和抗体(如PD-1阻断抗体)^[32-34], 具有这种结构的CAR被称为四代CAR。目前, 临床研究中应用的主要是二代CAR-T

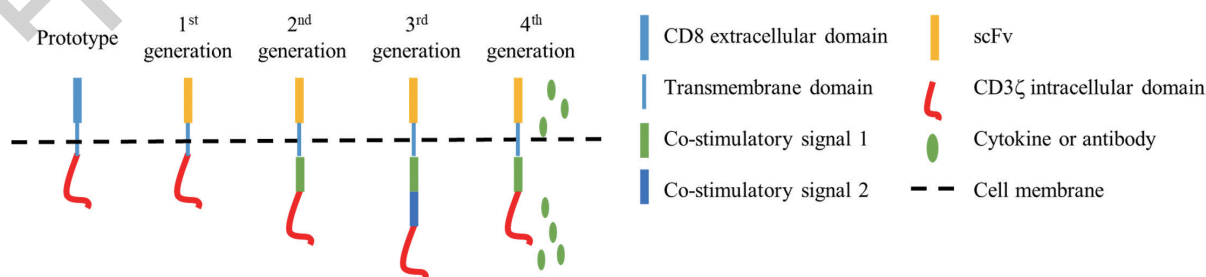


图1 CAR结构示意图

Fig.1 Schematic demonstration of CAR components

细胞, 三代和四代CAR-T细胞是否确实能够提高治疗效果有待更加深入的研究。

2 CAR基因表达系统

作为人工设计的序列, CAR必须经合适媒介在T细胞中表达后才能发挥功能。目前, 常用慢病毒和逆转录病毒系统将CAR基因转入原代T细胞中进行表达^[7,35]。这种策略能够使CAR在亲代和子代T细胞中始终表达, 具有较好的基因表达持续性。但是, 对某些靶点来说, CAR持续表达会引发正常细胞或组织受损^[36]。因此, 部分研究利用mRNA电转染和纳米材料结合质粒进行CAR短时表达^[37-40]。在这些研究中, 短时存在的CAR-T细胞表现出很好的抗肿瘤活性^[39-40]。但是, 这种策略是否适合临床应用还有待进一步研究的证实。此外, 转座子和CRISPR-cas9系统这些非病毒依赖的DNA编辑工具也在CAR-T细胞生产中被应用^[41-42]。考虑到大规模生产的便利性和可操作性, 病毒系统依然是CAR-T细胞制备的主要媒介。

3 CAR-T细胞治疗血液系统肿瘤的临床试验

靶抗原决定了CAR-T细胞治疗的安全性与有效性。目前, CD19是最好的CAR-T细胞治疗靶点^[43]。CD19在几乎全部B细胞恶性肿瘤细胞中表达, 能够有效防止免疫逃逸发生^[44]。更为重要的是, CD19在正常细胞中的表达非常局限, 特别是在重要细胞和组织中不表达, 使得针对该靶点的治疗十分安全^[44]。截至目前, CAR-T细胞临床研究的重要进展主要是在CD19阳性B细胞恶性肿瘤中取得的。接下来, 笔者将主要介绍CD19 CAR-T细胞的临床研究进展以及其他靶点特异性CAR-T细胞在血液系统恶性肿瘤治疗中的临床研究进展。

3.1 B细胞淋巴瘤

在B细胞淋巴瘤治疗中, CD19是最主要的靶点。在2010年时, Steve Rosenberg团队^[45]发表了第一篇利用CD19 CAR-T细胞治疗淋巴瘤患者的临床报道。在该项研究中, 1位多次复发的滤泡性淋巴瘤(follicular lymphoma, FL)患者被先后给予2次自体CAR-T细胞治疗。初次治疗后, 患者出现了部分缓解(partial response, PR)并且持续了7个月。二次治疗后, 患者再次PR并且实现了7年之久的无进展

生存(progression-free survival)^[36,45]。另外, 该研究还纳入了另外2例对标准治疗方案不敏感的FL患者。在这3位患者中, 1位死于与治疗无关的流感导致无法评估外, 其余2位患者均实现PR, 也就是说CD19 CAR-T细胞治疗在至少67%(2/3)FL患者中有效^[36]。对这些患者的进一步检查发现, CAR-T细胞不仅能够杀伤淋巴瘤肿块中的恶性细胞, 还能清除骨髓中的肿瘤细胞^[36]。该研究还证明了CAR-T细胞治疗淋巴瘤是较为安全的, 但是也会引起细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)^[36], 为后续研究敲响了警钟。CRS是CAR-T细胞治疗的主要毒副作用, 严重时会造成受者死亡。在同期的另外一项研究中, 2位FL患者在接受CD19 CAR-T细胞治疗后无反应^[46]。在该项研究中, CAR-T细胞采用的是不含共刺激信号的第一代结构^[46], 意味着CAR-T细胞的活性不能充分发挥。这两项临床研究结果说明, 共刺激信号对CAR-T细胞治疗的影响巨大。随后的临床研究证明了这一猜测。在该项试验中, 研究者分别构建了第一代和第二代CAR-T细胞。在体外研究中, 2种CAR-T细胞的增殖与杀伤活性差别不大。但是在淋巴瘤患者体内, 二代CAR-T细胞的增殖能力和存活时间显著优于一代CAR-T细胞^[47]。受到这些早期研究的启发, 之后的临床研究均采用第二代甚至第三代CAR-T细胞。Steve Rosenberg团队^[48]于2015年首次报道了CAR-T细胞治疗弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)的临床研究结果。在该项研究中, 包括9位DLBCL患者在内的11位非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)患者接受了CD19 CAR-T细胞治疗。在经过化疗预处理后, 患者被给予单次CAR-T细胞治疗。除了2位患者无法评估外, 其余13位患者均出现临床反应, 其中8例完全缓解(complete response, CR), 4例PR, 1例疾病稳定(stable disease, SD)。而在7位可评估的DLBCL患者中, 4例CR, 并且其中3例CR持续9~22个月^[48]。另外, 该报道还证明, CAR-T细胞持续存在不是维持疾病缓解的必要条件。CAR-T细胞会造成B细胞再生异常, 但是B细胞在无疾病复发时可以恢复再生^[48]。上述临床研究纳入的均是标准化疗方案治疗无效的血液病患者, 但是经特定化疗方案预处理后能够改善CAR-T细胞治疗效果。因此, Steve Rosenberg团队在2017年报道了化疗预处理影响CAR-T细胞治疗的研究结果。

在该研究中, 19位DLBCL、2位FL和1位套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma, MCL)等共计22位淋巴瘤患者首先接受了低剂量环磷酰胺加氟达拉滨预处理(fludarabine and cyclophosphamide, 即FC处理), 然后给予单次CD19 CAR-T细胞治疗。在这些患者中, 整体反应率达到73%(16/22)、CR率为55%(12/22)以及PR率为17%(4/22)。更重要的是, CAR-T细胞产生了持久效果, 截至该项研究报告时11位患者依然保持CR。该项研究还发现, 化疗预处理不仅能够清除患者体内的原有淋巴细胞数量, 还能增强IL-7和IL-15等刺激CAR-T细胞增殖和活化的细胞因子分泌。随后, 一项I期多中心临床研究进一步证实化疗预处理增强CAR-T细胞治疗效果^[49]。在这项多中心研究中, 7位难治性DLBCL患者首先接受了FC处理, 3天后接受了单次CAR-T细胞输注。结果显示, 整体反应率(overall response rate, ORR)达到71%(5/7), 其中CR比例为57%(4/7)。而且3位患者持续CR达12个月以上^[49]。与此一致的是, CAR-T细胞在患者体内持续存在12个月以上^[49]。在随后的II期多中心研究中, 101例难治侵袭性NHL患者接受了CD19 CAR-T细胞治疗, 其中ORR和CR分别为82%和54%。在报道发表时(中位随访时间8.7个月), 依然有44%患者保持ORR和39%患者保持CR^[50]。

上述临床研究采用了含CD28共刺激信号的CAR-T细胞。还有多项研究分析了4-1BB共刺激信号对CAR-T细胞治疗有效性和安全性的影响。2016年的一项临床研究初步证明, 含4-1BB共刺激结构的CD19 CAR-T细胞具有明显的抗淋巴瘤活性^[51]。在该项研究中, 14位FL患者接受了化疗预处理和单次CAR-T细胞治疗。在治疗后3个月, ORR为79%(11/14), CR为50%(7/14)。6个月时, 3位PR患者出现了CR, 同时CR比例提高到64%(9/14)。在随访期间(中位时间为11.4个月), PFS为77%(95%CI: 45%~92%)。这项研究提示, 4-1BB共刺激信号能够延长CAR-T细胞的体内存活时间。在一项由美国宾州大学主持的临床试验中, 研究者采用了具有早期记忆表型的T细胞制备CAR-T细胞, 期望这些细胞能够在患者体内更好地生存和发挥抗肿瘤活性^[52]。与预期一致的是, 这些CAR-T细胞在包括NHL和急性淋巴白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)在内的B细胞血液病患者体内表现出很强的增殖能力, 而且这一特征在NHL患者中表现的尤为突出^[52]。但

是, 该研究未报道这种CAR-T细胞的治疗效果如何。同样是由宾州大学主持的一项临床研究中, 14例DLBCL患者和14例FL患者均接受了CD19 CAR-T细胞治疗, 总体反应率为64%(18/28), 其中6位DLBCL患者(43%)和10位FL患者(71%)出现CR。随着随访时间延长(中位时间为28.6个月), DLBCL患者和FL患者反应率分别达到86%和89%^[53]。这两项研究提示, 对于采用4-1BB共刺激信号结构的CAR-T细胞, 制备时的T细胞分化程度可能对其在体内的分化和持续影响不大。在另外一项临床研究中, 32例NHL患者接受了含特定T细胞亚群的CD19 CAR-T细胞输注^[54]。在该研究中, CAR-T细胞含有等比例CD4⁺和CD8⁺T细胞。这种混合细胞在临床前研究中展示出较好的抗肿瘤活性。患者输注CAR-T细胞后的ORR和CR分别达到63%和33%。该研究还证实, FC处理之所以能够显著改善CAR-T细胞疗效, 可能与化疗预处理降低患者免疫排斥有关^[54]。一项涉及100余位淋巴瘤患者的临床研究也支持化疗预处理改善CAR-T细胞效果的观察^[55]。在随访时间超过3个月的51位患者中, 最高ORR达到59%(30/51), 其中43%(22/51) CR和16%(8/51) PR。上述临床研究证实, CD19特异性二代CAR-T细胞(含有CD28或4-1BB共刺激信号)在淋巴瘤治疗中是安全有效的, 而且化疗预处理能够显著提高CAR-T细胞治疗效果。

除了CD19外, CD20、CD30和kappa轻链也是CAR-T细胞治疗淋巴瘤的重要靶点^[56-59]。在一项早期临床研究中, 2位淋巴瘤患者在接受CD20 CAR-T细胞治疗后进行了骨髓移植。其中1位患者发生CR并持续了9年, 而另1位患者出现了19个月的CR^[46]。另外, 三项研究也证实, CD20 CAR-T细胞在淋巴瘤治疗中安全有效^[56-58]。关于CD30特异性CAR-T细胞治疗淋巴瘤的报道较少, 但是针对该靶点的基因工程T细胞治疗能够产生至少30个月的CR^[60-61]。kappa轻链特异性CAR-T细胞治疗淋巴瘤的整体反应率不是十分理想(约为33%), 但是在部分患者中能够带来至少32个月的CR^[59]。而且kappa轻链特异性CAR-T细胞不会造成CRS^[59], 为降低CAR-T细胞治疗副作用带来了有效途径。

3.2 B细胞白血病

CAR-T细胞治疗在B细胞ALL和慢性淋巴白血病(chronic lymphoblastic leukemia, CLL)中取得了较好效果。其中, CAR-T细胞治疗ALL的效果最为突出,

患者完全缓解率(CR)可达到90%以上^[43]。在B细胞白血病治疗中, CD19是最重要的CAR-T细胞靶点, 针对这一靶点的临床研究展示出良好的效果^[9,44]。在2010年时, 一项临床报道, CLL患者能够耐受高剂量CD19 CAR-T细胞治疗(最高输注量为 3×10^7 细胞/kg)^[62], 为后续相关研究中的细胞输注数量提供了参考。在随后的一项临床研究中, 3位年龄在64岁到77岁之间的成年CLL患者接受了CD19 CAR-T细胞治疗^[63]。这3位患者之前均接受过多种常规治疗且出现化疗耐药。在接受CAR-T细胞治疗后, 2位患者(66.7%)出现CR, 1位患者发生PR^[63]。更为重要的是, 该项研究证明, CAR-T细胞在患者体内能够至少存活6个月, 而且这些基因工程T细胞在体内依然具有强大的增殖潜能和杀伤活性, 单个细胞能够扩增1 000倍以上并杀伤至少1 000个恶性细胞。由于CAR-T细胞能够在体内长期生存, 2位CR患者的骨髓和外周血中均未检测到恶性细胞, 而且缓解期超过10个月^[63]。在同期的另外一项针对化疗抵抗CLL患者的临床研究中, 经环磷酸胺预处理的4位受试者接受了CD19 CAR-T细胞治疗后, 3位患者出现了临床反应^[64]。尽管这些患者出现了不同程度的副作用, 但全部能够耐受CAR-T细胞治疗。这两项早期研究进一步证明, CAR-T细胞治疗CLL是安全有效的。在随后的一项涉及14位CLL患者的临床研究中, CAR-T细胞治疗后的整体反应率(overall response, OR)达到57%(8/14), 其中, CR率为29%(4/14)^[65]。在该项研究中, CAR-T细胞在体内能够持续存活4年而且始终具有抗肿瘤活性。该研究还证明, 患者临床反应与CAR-T细胞体内扩增有关, 当体内存在CAR-T细胞时, CR能够持续保持^[65]。该结果证明, CAR-T细胞能够持续发挥抗肿瘤作用, 具有实现临床治愈的潜力。后续的几项研究进一步证实, 在CLL中, CD19 CAR-T细胞治疗安全有效^[66-68]。在CLL治疗中, 针对kappa轻链的CAR-T细胞也被证实是安全有效的^[59], 但是临床反应率难以与CD19 CAR-T细胞相比, 提示CD19可能是最好的CLL治疗靶点。

CD19特异性CAR-T细胞在ALL治疗中展现出令人印象更加深刻的治疗效果。在一项针对难治性和复发性ALL患者的临床研究中, 2位儿童(治疗时分别为7岁和10岁)患者在经历了2次白血病复发后接受了CAR-T细胞治疗^[69]。与在成年患者中一致, CAR-T细胞在这2位儿童患者体内大量扩增, 峰

值数量达到了输注数量的1 000倍以上, 分别占到总循环T细胞的72%和34%, 而且这些基因工程T细胞在体内至少存活了6个月。更为重要的是, 在骨髓中也检测到了CAR-T细胞, 而且这些CAR-T细胞经历了大量扩增过程, 提示CAR-T细胞能够进入肿瘤病灶清除恶性细胞^[69]。另外, 这2位儿童患者治疗后均达到CR^[69]。其中, 1位患者的CR持续了11个月以上, 另1位患者在治疗后2个月复发, 但此时已经检测不到CD19阳性细胞, 表明该患者复发与CAR-T细胞本身无关^[69]。在另外一项涉及30位复发/难治性B细胞ALL的儿童和成人(年龄为5岁至22岁)患者的临床试验中, 90%患者在接受CAR-T细胞治疗后实现了CR。在这些患者中, 6个月无病生存率(disease-free survival, DFS)为67%, 总体生存率(overall survival, OS)为78%, 而且持续缓解时间达到了24个月以上。值得注意的是, 73%患者出现了无复发的B细胞缺失, 提示CAR-T细胞在体内持续发挥功能^[70]。在一项同样既有儿童患者又有成年患者的临床研究中, CAR-T细胞治疗后的CR达到70%^[26]。但是在该项研究中, 治疗后28天时能够检测到正常B细胞恢复^[26]。上述两项研究表明, 共刺激信号影响CAR-T细胞的体内存活时间, 前者采用的含4-1BB共刺激信号的CAR-T细胞具有更加持久的杀伤活性, 而后者含CD28共刺激信号的CAR-T细胞的持续性较差, 但是二种CAR-T细胞治疗ALL的效果类似。在一项多中心针对ALL的临床研究中, 75位患者接受包含4-1BB共刺激信号的CD19 CAR-T细胞治疗后3个月的整体缓解率(overall remission rate)达到81%^[71]。患者在治疗后6个月和12个月时OS分别为90%和76%, 而DFS分别达到73%和50%^[71]。与之前报道一致, 该研究发现, CAR-T细胞能够在患者体内至少存活20个月^[71]。在另外一项平均随访时间长达28个月(随访时间范围为1~65个月)的研究中, 53位ALL患者接受了CAR-T细胞(含CD28共刺激信号)治疗。其中, 83%患者出现CR, 最长DFS可达11.5个月^[72]。该项研究还证实, CAR-T细胞治疗效果与患者肿瘤负荷密切相关^[72], 提示降低肿瘤负荷对改善CAR-T细胞治疗效果至关重要。上述研究均采用患者自身T细胞进行治疗, 而一项在英国开展的临床研究采用了异体T细胞进行CAR-T细胞制备和治疗^[42]。在该项研究中, 研究者采用TALEN基因编辑技术敲除了供体细胞的T细胞受体(T cell receptor, TCR), 并对2位

B细胞ALL患者进行了治疗。这2位患者在接受异体CD19 CAR-T细胞治疗后均出现了缓解, 而且经基因编辑的异体T细胞能够在受体体内存活增殖^[42]。

在ALL治疗中, CD22也是一个较好靶点。在一项涉及21位B细胞ALL患者的临床试验中, CD22 CAR-T细胞治疗后的缓解率达到73%, 中位缓解时间达到6个月^[73]。值得注意的是, 在这项研究中包含了17位CD19 CAR-T细胞治疗失败的患者, 而这些患者能够响应CD22 CAR-T细胞治疗^[73]。该研究为B细胞ALL治疗提供了新靶点, 拓宽了CAR-T细胞治疗临床应用人群。

3.3 多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)

MM源于恶性转化的浆细胞(plasma cell), 属于B细胞恶性血液疾病^[74]。与B细胞白血病和淋巴瘤不同的是, MM通常不表达CD19^[75]。但是2015年的一篇报道证实, CD19 CAR-T细胞能够用于MM治疗^[75]。在本研究中, 1位难治性MM患者接受了CAR-T细胞治疗和骨髓移植, 尽管CD19阳性恶性细胞的比例仅为0.05%, 但是这位患者依然出现了至少12个月的CR。本研究的其余9位患者中有5位也实现了PFS。该研究表明, CAR-T细胞治疗能够提高骨髓移植治疗MM成功率。在MM中, B细胞成熟抗原(B cell maturation antigen, BCMA)是较好的CAR-T细胞治疗靶点。BCMA主要在B细胞和浆细胞上表达, 而在其他细胞特别是造血干细胞上表达^[74,76]。因此, BCMA特异性CAR-T细胞治疗可能具有较好安全性。2016年的一项临床试验证明, BCMA特异性CAR-T细胞治疗不会导致严重副作用, 而且具有一定效果^[77]。该临床试验的后续观察显示, BCMA CAR-T细胞治疗后, ORR达到81%(13/16), 其中63%(10/18)为PR或CR, 中位PFS为31周^[77]。在其他临床观察中, 研究人员还尝试了靶向kappa轻链以及NKG2D配体等CAR-T细胞治疗的安全性与其有效性^[59,78]。但是与BCMA相比, 这些靶点的治疗效果相对较差, 提示BCMA可能是CAR-T细胞治疗MM的较佳靶点。

3.4 急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)

除了B细胞恶性血液疾病外, 多项研究还观察了CAR-T细胞治疗AML的安全性和有效性^[79-82]。针对Lewis-Y抗原的临床试验是第一个针对AML的CAR-T细胞治疗临床研究报道^[79]。在该研究中, 4位复发性AML患者接受最多 1.3×10^9 个T细胞(其中

CAR-T细胞比例为14%~38%)输注后, 2位患者出现了临床缓解^[79]。尽管总体反应率不高, 但是该研究证明, CAR-T细胞能够进入骨髓并原位杀伤AML细胞, 而且不会造成严重的毒副作用^[79]。NKG2D CAR-T细胞也被证实在AML治疗中是安全的, 并且能够产生一定临床反应^[78,80]。另外两项临床研究还证实, CD33和CD123也是CAR-T细胞治疗AML的候选靶点^[81-82]。针对这2个靶点的治疗能够持续降低肿瘤负荷, 而且不会造成严重副作用。尽管多个靶点在AML治疗中被测试, 但是针对这些靶点的CAR-T细胞治疗均未获得令人满意的结果。因此, AML治疗有待寻找更加合适的CAR-T细胞治疗靶点。

3.5 主要副作用

CAR-T细胞治疗血液系统肿瘤的常见毒副作用主要包括CRS和神经毒性^[83-85]。对部分靶点来说, CAR-T细胞还会造成B细胞再生障碍^[35,85]。其中, CRS是最为常见也最为危险的副作用。CRS的发生与化疗预处理方案、肿瘤负荷和T细胞扩增有关, 临床症状主要表现为发烧、肌痛、精神萎靡, 严重者出现毛细血管渗漏综合征与凝血障碍等^[83,86-87]。CRS会在CAR-T细胞输注后数小时或数天出现, 往往伴随有大量炎症因子产生^[86,88]。目前, 应对CRS的临床策略主要是给予IL-6受体阻断抗体托珠单抗(tocilizumab)和糖皮质激素。但是, 这种策略只能暂时抑制炎症反应, 不能真正降低炎症因子水平并预防CRS发生。对于发生严重CRS的患者, 还可以采用血液透析的方法快速降低体内细胞因子浓度, 从而有效减轻相关副作用^[89]。近年来, 发现单核巨噬细胞在CRS发生中发挥关键作用^[90-92], 并有研究证明, 阻断IL-1通路能够显著抑制炎症因子释放, 避免CRS发生^[91-92]。这种策略目前仅在动物实验中验证成功, 距离临床应用还有待进一步研究。神经毒性是另外一种常见的CAR-T细胞治疗副作用。研究表明, CAR-T细胞治疗造成的炎症因子上调和内皮细胞活化与神经毒性有关^[93-95]。与CRS不同的是, 目前缺乏直接且有效的、可用于诊断神经毒性的检测指标。

4 结语与展望

CAR-T细胞在血液系统恶性肿瘤治疗中取得了巨大成功, 但是在实体瘤中应用还面临很多挑战。

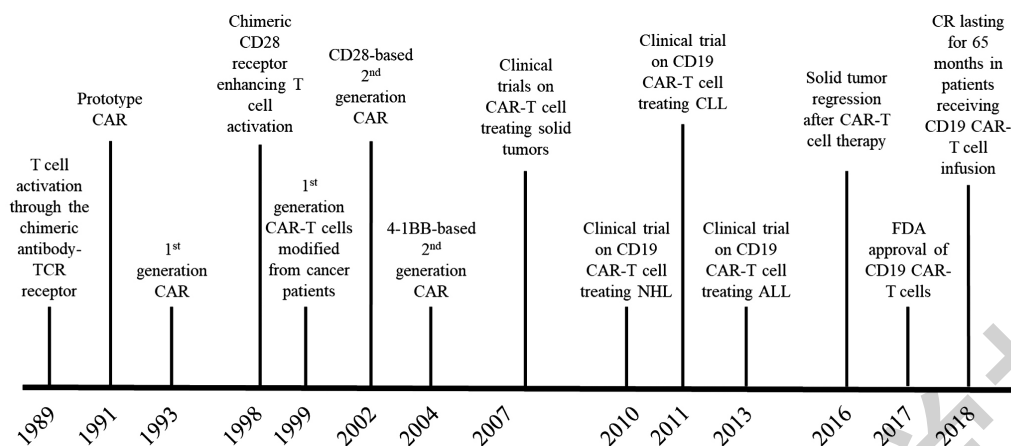


图2 CAR-T细胞发展历史

Fig.2 The milestone events in CAR-T cell development

回顾近三十年的发展历程,我们发现,CAR结构不断完善后,CAR-T细胞治疗才在白血病和淋巴瘤中取得成功(图2)。在这期间,CAR-T细胞在实体瘤治疗中也取得了一定效果,但是难以像在血液系统肿瘤中那样高效且持久地控制疾病进展。这种差异可能与实体瘤自身特点有关。实体瘤容易发生突变造成抗原丢失,导致CAR-T细胞失去攻击靶点。实体瘤肿瘤微环境也给CAR-T细胞治疗造成巨大的困难,其中的种种抑制因素严重降低CAR-T细胞活性,使后者功能难以充分发挥。但是,随着高通量分析技术的进步,我们将对肿瘤抗原更有更加广阔的认识,一定能够找到适合实体瘤治疗的抗原或抗原组合。同时,随着肿瘤免疫学和分子生物学的进步,我们对肿瘤微环境的了解更加清晰,从而能够针对这些影响因素设计适合的CAR结构。在基础和临床工作者的共同努力下,相信在不久的将来,CAR-T细胞治疗实体瘤一定能够取得重大突破。

参考文献 (References)

- Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, Cassard L, Yang JC, Hughes MS, *et al.* Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood* 2009; 114(3): 535-46.
- Tran E, Turcotte S, Gros A, Robbins PF, Lu YC, Dudley ME, *et al.* Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4⁺ T cells in a patient with epithelial cancer. *Science* 2014; 344(6184): 641-5.
- Irving BA, Weiss A. The cytoplasmic domain of the T cell receptor zeta chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell* 1991; 64(5): 891-901.
- Romeo C, Seed B. Cellular immunity to HIV activated by CD4 fused to T cell or Fc receptor polypeptides. *Cell* 1991; 64(5): 1037-46.
- Krause A, Guo HF, Latouche JB, Tan C, Cheung NK, Sadelain M. Antigen-dependent CD28 signaling selectively enhances survival and proliferation in genetically modified activated human primary T lymphocytes. *J Exp Med* 1998; 188(4): 619-26.
- Gong MC, Latouche JB, Krause A, Heston WD, Bander NH, Sadelain M. Cancer patient T cells genetically targeted to prostate-specific membrane antigen specifically lyse prostate cancer cells and release cytokines in response to prostate-specific membrane antigen. *Neoplasia* 1999; 1(2): 123-7.
- Sadelain M, Riviere I, Riddell S. Therapeutic T cell engineering. *Nature* 2017; 545(7655): 423-31.
- June CH, Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. *N Engl J Med* 2018; 379(1):64-73.
- Sadelain M. CD19 CAR T Cells. *Cell* 2017; 171(7): 1471.
- Kershaw MH, Westwood JA, Parker LL, Wang G, Eshhar Z, Mavroukakis SA, *et al.* A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12(20 Pt 1): 6106-15.
- Lamers CH, Sleijfer S, van Steenbergen S, van Elzakker P, van Krimpen B, Groot C, *et al.* Treatment of metastatic renal cell carcinoma with CAIX CAR-engineered T cells: clinical evaluation and management of on-target toxicity. *Mol Ther* 2013; 21(4): 904-12.
- Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, Robertson C, Ghazi A, Gerken C, *et al.* Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of HER2-positive sarcoma. *J Clin Oncol* 2015; 33(15): 1688-96.
- Beatty GL, O'Hara MH, Lacey SF, Torigian DA, Nazimuddin F, Chen F, *et al.* Activity of mesothelin-specific chimeric antigen receptor T cells against pancreatic carcinoma metastases in a phase I trial. *Gastroenterology* 2018; 155(1): 29-32.
- Li F, Zhang T, Cao L, Zhang Y. Chimeric antigen receptor T cell based immunotherapy for cancer. *Curr Stem Cell Res Ther* 2018; 13(5): 327-35.
- Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-

- cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989; 86(24): 10024-8.
- 16 Fan M, Li M, Gao L, Geng S, Wang J, Wang Y, *et al*. Chimeric antigen receptors for adoptive T cell therapy in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol* 2017; 10(1): 151.
- 17 Sadelain M, Brentjens R, Riviere I. The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Discov* 2013; 3(4): 388-98.
- 18 Chang ZL, Chen YY. CARs: synthetic immunoreceptors for cancer therapy and beyond. *Trends Mol Med* 2017; 23(5): 430-50.
- 19 June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, Ghassemi S, Milone MC. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science* 2018; 359(6382): 1361-5.
- 20 Imai C, Mihara K, Andreansky M, Nicholson IC, Pui CH, Geiger TL, *et al*. Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2004; 18(4): 676-84.
- 21 Carpenito C, Milone MC, Hassan R, Simonet JC, Lakhali M, Suhoski MM, *et al*. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains. *Proc Nat Acad Sci USA* 2009; 106(9): 3360-5.
- 22 Song DG, Ye Q, Carpenito C, Poussin M, Wang LP, Ji C, *et al*. *In vivo* persistence, tumor localization, and antitumor activity of CAR-engineered T cells is enhanced by costimulatory signaling through CD137 (4-1BB). *Cancer Res* 2011; 71(13): 4617-27.
- 23 Song DG, Ye Q, Poussin M, Harms GM, Figini M, Powell DJ Jr. CD27 costimulation augments the survival and antitumor activity of redirected human T cells *in vivo*. *Blood* 2012; 119(3): 696-706.
- 24 Milone MC, Fish JD, Carpenito C, Carroll RG, Binder GK, Teachey D, *et al*. Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy *in vivo*. *Mol Ther* 2009; 17(8): 1453-64.
- 25 Brentjens RJ, Santos E, Nikhamin Y, Yeh R, Matsushita M, La Perle K, *et al*. Genetically targeted T cells eradicate systemic acute lymphoblastic leukemia xenografts. *Clin Cancer Res* 2007; 13(18 Pt 1): 5426-35.
- 26 Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, Cui YK, Delbrook C, Feldman SA, *et al*. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2015; 385(9967): 517-28.
- 27 Zhong XS, Matsushita M, Plotkin J, Riviere I, Sadelain M. Chimeric antigen receptors combining 4-1BB and CD28 signaling domains augment PI3kinase/AKT/Bcl-XL activation and CD8⁺ T cell-mediated tumor eradication. *Mol Ther* 2010; 18(2): 413-20.
- 28 Guedan S, Posey AD Jr, Shaw C, Wing A, Da T, Patel PR, *et al*. Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation. *JCI Insight* 2018; 3(1): pii: 96976.
- 29 Pegram HJ, Purdon TJ, van Leeuwen DG, Curran KJ, Giralt SA, Barker JN, *et al*. IL-12-secreting CD19-targeted cord blood-derived T cells for the immunotherapy of B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2015; 29(2): 415-22.
- 30 Chmielewski M, Abken H. CAR T cells releasing IL-18 convert to T-bet (high) FoxO1 (low) effectors that exhibit augmented activity against advanced solid tumors. *Cell Rep* 2017; 21(11): 3205-19.
- 31 Adachi K, Kano Y, Nagai T, Okuyama N, Sakoda Y, Tamada K. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. *Nat Biotechnol* 2018; 36(4): 346-51.
- 32 Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J, Feng Y, Dimitrov DS, Jones DR, *et al*. Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition. *J Clin Invest* 2016; 126(8): 3130-44.
- 33 Rafiq S, Yeku OO, Jackson HJ, Purdon TJ, van Leeuwen DG, Drakes DJ, *et al*. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy *in vivo*. *Nat Biotechnology* 2018; 36(9): 847-56.
- 34 Li S, Siriwon N, Zhang X, Yang S, Jin T, He F, *et al*. Enhanced cancer immunotherapy by chimeric antigen receptor-modified T cells engineered to secrete checkpoint inhibitors. *Clin Cancer Res* 2017; 23(22): 6982-92.
- 35 Brudno JN, Kochenderfer JN. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for lymphoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 15(1): 31-46.
- 36 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.
- 37 Kawalekar OU, O'Connor RS, Fraietta JA, Guo L, McGettigan SE, *et al*. Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells. *Immunity* 2016; 44(2): 380-90.
- 38 Smith TT, Stephan SB, Moffett HF, McKnight LE, Ji W, Reiman D, *et al*. *In situ* programming of leukaemia-specific T cells using synthetic DNA nanocarriers. *Nat Nanotechnol* 2017; 12(8): 813-20.
- 39 Liu X, Jiang S, Fang C, Li H, Zhang X, Zhang F, *et al*. Novel T cells with improved *in vivo* anti-tumor activity generated by RNA electroporation. *Protein Cell* 2017; 8(7): 514-26.
- 40 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.
- 41 Roth TL, Puig-Saus C, Yu R, Shifrut E, Carnevale J, Li PJ, *et al*. Reprogramming human T cell function and specificity with non-viral genome targeting. *Nature* 2018; 559(7714): 405-9.
- 42 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; 9(374): pii: eaaj2013.
- 43 Zhang T, Cao L, Xie J, Shi N, Zhang Z, Luo Z, *et al*. Efficiency of CD19 chimeric antigen receptor-modified T cells for treatment of B cell malignancies in phase I clinical trials: a meta-analysis. *Oncotarget* 2015; 6(32): 33961-71.
- 44 Sadelain M. CAR therapy: the CD19 paradigm. *J Clin Invest* 2015; 125(9): 3392-400.
- 45 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.
- 46 Jensen MC, Popplewell L, Cooper LJ, DiGiusto D, Kalos M, Ostberg JR, *et al.* Antitransgene rejection responses contribute to attenuated persistence of adoptively transferred CD20/CD19-specific chimeric antigen receptor redirected T cells in humans. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(9): 1245-56.
- 47 Savoldo B, Ramos CA, Liu E, Mims MP, Keating MJ, Carrum G, *et al.* CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients. *J Clin Invest* 2011; 121(5): 1822-6.
- 48 Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, Somerville RP, 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): 540-9.
- 49 Zhang C, Wang Z, Yang Z, Wang M, Li S, Li Y, *et al.* Phase I Escalating-Dose Trial of CAR-T Therapy Targeting CEA⁺ Metastatic Colorectal Cancers. *Mol Ther* 2017; 25(5): 1248-58.
- 50 Locke FL, Neelapu SS, Bartlett NL, Lekakis LJ, Miklos D, Jacobson CA, *et al.* Abstract CT019: Primary results from ZUMA-1: a pivotal trial of axicabtagene ciloleucel (axicel; KTE-C19) in patients with refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL). *Cancer Res* 2017; 77(13 Supplement): CT019.
- 51 Chong EA, Svoboda J, Nasta SD, Porter DL, Winchell N, Landsburg DJ, *et al.* Chimeric antigen receptor modified T cells directed against CD19 (CTL019) in patients with poor prognosis, relapsed or refractory CD19⁺ follicular lymphoma: prolonged remissions relative to antecedent therapy. *Blood* 2016; 128(22): 1100.
- 52 Singh N, Perazzelli J, Grupp SA, Barrett DM. Early memory phenotypes drive T cell proliferation in patients with pediatric malignancies. *Sci Transl Med* 2016; 8(320): 320-3.
- 53 Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, Nasta SD, Mato AR, Anak O, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas. *New Engl J Med* 2017; 377(26): 2545-54.
- 54 Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, Hudecek M, Pender B, Robinson E, *et al.* Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8⁺ and CD4⁺ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells. *Sci Transl Med* 2016; 8(355): 355ra116.
- 55 Schuster SJ, Bishop MR, Tam C, Waller EK, Borchmann P, McGuirk J, *et al.* Global pivotal phase 2 trial of the CD19-targeted therapy CTL019 in adult patients with relapsed or refractory (R/R) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)—an interim analysis. *Hematological Oncology* 2017; 35(S2): 27.
- 56 Till BG, Jensen MC, Wang J, Chen EY, Wood BL, Greisman HA, *et al.* Adoptive immunotherapy for indolent non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma using genetically modified autologous CD20-specific T cells. *Blood* 2008; 112(6): 2261-71.
- 57 Till BG, Jensen MC, Wang J, Qian X, Gopal AK, Maloney DG, *et al.* CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results. *Blood* 2012; 119(17): 3940-50.
- 58 Wang Y, Zhang WY, Han QW, Liu Y, Dai HR, Guo YL, *et al.* Effective response and delayed toxicities of refractory advanced diffuse large B-cell lymphoma treated by CD20-directed chimeric antigen receptor-modified T cells. *Clin Immunol* 2014; 155(2): 160-75.
- 59 Ramos CA, Savoldo B, Torrano V, Ballard B, Zhang H, Dakhova O, *et al.* Clinical responses with T lymphocytes targeting malignancy-associated kappa light chains. *J Clin Invest* 2016; 126(7): 2588-96.
- 60 Wang CM, Wu ZQ, Wang Y, Guo YL, Dai HR, Wang XH, *et al.* Autologous T cells expressing CD30 chimeric antigen receptors for relapsed or refractory hodgkin lymphoma: an open-label phase I trial. *Clin Cancer Res* 2017; 23(5): 1156-66.
- 61 Ramos CA, Ballard B, Zhang H, Dakhova O, Gee AP, Mei Z, *et al.* Clinical and immunological responses after CD30-specific chimeric antigen receptor-redirceted lymphocytes. *J Clin Invest* 2017; 127(9): 3462-71.
- 62 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.
- 63 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.
- 64 Brentjens RJ, Riviere I, Park JH, Davila ML, Wang X, Stefanski J, *et al.* Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood* 2011; 118(18): 4817-28.
- 65 Porter DL, Hwang WT, Frey NV, Lacey SF, Shaw PA, Loren AW, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Sci Transl Med* 2015; 7(303): 303ra139.
- 66 Long M, Beckwith K, Do P, Mundy BL, Gordon A, Lehman AM, *et al.* Ibrutinib treatment improves T cell number and function in CLL patients. *J Clin Invest* 2017; 127(8): 3052-64.
- 67 Geyer MB, Riviere I, Senechal B, Wang X, Wang Y, Purdon TJ, *et al.* Autologous CD19-targeted CAR T cells in patients with residual CLL following initial purine analog-based therapy. *Mol Ther* 2018; 26(8): 1896-905.
- 68 Turtle CJ, Hay KA, Hanafi LA, Li D, Cherian S, Chen X, *et al.* Durable molecular remissions in chronic lymphocytic leukemia treated with CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells after failure of ibrutinib. *J Clin Oncol* 2017; 35(26): 3010-20.
- 69 Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, *et al.* Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *New Engl J Med* 2013; 368(16): 1509-18.
- 70 Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *New Engl J Med* 2014; 371(16): 1507-17.
- 71 Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, Rives S, Boyer M, Bittencourt H, *et al.* Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *New Engl J Med* 2018; 378(5): 439-48.
- 72 Park JH, Riviere I, Gonen M, Wang X, Senechal B, Curran KJ, *et al.* Long-term follow-up of CD19 CAR therapy in acute lymphoblastic leukemia. *New Engl J Med* 2018; 378(5): 449-59.

- 73 Fry TJ, Shah NN, Orentas RJ, Stetler-Stevenson M, Yuan CM, Ramakrishna S, *et al.* CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy. *Nat Med* 2018; 24(1): 20-8.
- 74 Ali SA, Shi V, Maric I, Wang M, Stroncek DF, Rose JJ, *et al.* T cells expressing an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of multiple myeloma. *Blood* 2016; 128(13): 1688-700.
- 75 Garfall AL, Maus MV, Hwang WT, Lacey SF, Mahnke YD, Melenhorst JJ, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells against CD19 for multiple myeloma. *New Engl J Med* 2015; 373(11): 1040-7.
- 76 Lee L, Draper B, Chaplin N, Philip B, Chin M, Galas-Filipowicz D, *et al.* An APRIL-based chimeric antigen receptor for dual targeting of BCMA and TACI in multiple myeloma. *Blood* 2018; 131(7): 746-58.
- 77 Brudno JN, Maric I, Hartman SD, Rose JJ, Wang M, Lam N, *et al.* T cells genetically modified to express an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of poor-prognosis relapsed multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2018; 36(22): 2267-80.
- 78 Nikiforow S, Werner L, Murad J, Jacobs M, Johnston L, Patches S, *et al.* Safety data from a first-in-human phase 1 trial of NKG2D chimeric antigen receptor-T cells in AML/MDS and multiple myeloma. *Blood* 2016; 128(22): 4052.
- 79 Ritchie DS, Neeson PJ, Khot A, Peinert S, Tai T, Tainton K, *et al.* Persistence and efficacy of second generation CAR T cell against the LeY antigen in acute myeloid leukemia. *Mol Ther* 2013; 21(11): 2122-9.
- 80 Sallman DA, Brayer J, Sagatys EM, Loney C, Breman E, Agaugue S, *et al.* NKG2D-based chimeric antigen receptor therapy induced remission in a relapsed/refractory acute myeloid leukemia patient. *Haematologica* 2018; 103(9): e424-6.
- 81 Wang QS, Wang Y, Lü HY, Han QW, Fan H, Guo B, *et al.* Treatment of CD33-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in one patient with relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *Mol Ther* 2015; 23(1): 184-91.
- 82 Luo Y, Chang LJ, Hu Y, Dong L, Wei G, Huang H. First-in-man CD123-specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the treatment of refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 2015; 126(23): 3778.
- 83 Liu D, Zhao J. Cytokine release syndrome: grading, modeling, and new therapy. *J Hematol Oncol* 2018; 11(1): 121.
- 84 Tomuleasa C, Fuji S, Berce C, Onaciu A, Chira S, Petrushev B, *et al.* Chimeric antigen receptor T-cells for the treatment of B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Front Immunol* 2018; 9: 239.
- 85 Park JH, Geyer MB, Brentjens RJ. CD19-targeted CAR T-cell therapeutics for hematologic malignancies: interpreting clinical outcomes to date. *Blood* 2016; 127(26): 3312-20.
- 86 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.
- 87 Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, Wierda W, Gutierrez C, Locke FL, *et al.* Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 15(1): 47-62.
- 88 Porter D, Frey N, Wood PA, Weng Y, Grupp SA. Grading of cytokine release syndrome associated with the CAR T cell therapy tisagenlecleucel. *J Hematol Oncol* 2018; 11(1): 35.
- 89 Liu Y, Chen X, Wang D, Li H, Huang J, Zhang Z, *et al.* Hemofiltration successfully eliminates severe cytokine release syndrome following CD19 CAR-T-cell therapy. *J Immunother* 2018; 41(9): 406-10.
- 90 Singh N, Hofmann TJ, Gershenson Z, Levine BL, Grupp SA, Teachey DT, *et al.* Monocyte lineage-derived IL-6 does not affect chimeric antigen receptor T-cell function. *Cytotherapy* 2017; 19(7): 867-80.
- 91 Giavridis T, van der Stegen SJC, Eyquem J, Hamieh M, Piersigilli A, Sadelain M. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade. *Nat Med* 2018; 24(6): 731-8.
- 92 Norelli M, Camisa B, Barbiera G, Falcone L, Purevdorj A, Genua M, *et al.* Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nat Med* 2018; 24(6): 739-48.
- 93 Taraseviciute A, Tkachev V, Ponce R, Turtle CJ, Snyder JM, Liggett HD, *et al.* Chimeric antigen receptor T cell-mediated neurotoxicity in non-human primates. *Cancer Discov* 2018; 8(6): 750-63.
- 94 Santomasso BD, Park JH, Salloum D, Riviere I, Flynn J, Mead E, *et al.* Clinical and biologic correlates of neurotoxicity associated with CAR T cell therapy in patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL). *Cancer Discov* 2018; doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1319.
- 95 Gust J, Hay KA, Hanafi LA, Li D, Myerson D, Gonzalez-Cuyar LF, *et al.* Endothelial activation and blood-brain barrier disruption in neurotoxicity after adoptive immunotherapy with CD19 CAR-T cells. *Cancer Discov* 2017; 7(12): 1404-19.