

嵌合抗原受体修饰淋巴细胞在多发性骨髓瘤中的研究进展

魏华萍, 赵小利, 高春记

解放军总医院 血液科, 北京 100853

摘要: 嵌合抗原受体修饰淋巴细胞是过继免疫治疗的一种类型, 其通过体外改造细胞表面受体, 使淋巴细胞过表达, 从而促进淋巴细胞的抗肿瘤活性。这种技术是目前恶性肿瘤免疫治疗领域中的新治疗方法之一, 在恶性血液病尤其是B细胞系统恶性血液病中治疗效果令人振奋。多发性骨髓瘤是血液系统第二常见恶性肿瘤, 好发于老年人, 目前仍无法治愈, 研究者们一直在探索该病的免疫治疗。本文对近年来嵌合抗原受体修饰淋巴细胞技术的发展及其在多发性骨髓瘤中的应用进行综述。

关键词: 多发性骨髓瘤; 嵌合抗原受体; 免疫治疗; 基因修饰T淋巴细胞

中图分类号: R 733.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2015)11-1156-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2015.11.026

网络出版时间: 2015-06-19 11:25

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20150619.1125.004.html

Advances in immunotherapy of multiple myeloma by using chimeric antigen receptor-modified lymphocytes

WEI Huaping, ZHAO Xiaoli, GAO Chunji

Department of Hematology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: GAO Chunji. Email: gaochunji@hotmail.com

Abstract: Chimeric antigen receptor-modified lymphocyte is a type of cancer immunotherapies. By re-engineering antigen receptor in vitro, it can be expressed on the membrane of lymphocytes and increase the function of killing cancer cells. It is now the most attractive field of cancer immunotherapies in hematologic malignancies, especially in B-cell malignancies by its significant therapeutic effect. Multiple myeloma (MM) is the second common hematologic cancer in the elderly populations. Up to now, it is still incurable. Researchers have been exploring the applications of immunotherapy in MM. This review discusses the recent development of chimeric antigen receptor-modified lymphocytic cell technology and its application in multiple myeloma.

Keywords: multiple myeloma; chimeric antigen receptor; immunotherapy; gene modified T lymphocyte

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是浆细胞系统恶性克隆性疾病, 主要特征为血和尿中出现M蛋白以及骨髓中浆细胞恶性增生。传统的化疗、造血干细胞移植以及近年使用的蛋白酶体抑制剂虽然都有一定疗效, 但仍无法完全治愈。免疫治疗近年来得到快速发展, 目前取得成功治疗的免疫治疗类型主要包括: 1) 单克隆抗体的靶向治疗; 2) 异基因造血干细胞移植; 3) 疫苗治疗; 4) T细胞抑制通路阻滞剂; 5) 输注T淋巴细胞, 包括输注嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)修饰淋巴细胞等^[1]。CAR细胞治疗在最近的临床实验中显示较好的治疗效果, 本综述总结了嵌合抗原受体修饰淋巴细胞的设计及在多发性骨髓瘤中的临床应用。

1 CAR细胞的设计原理

1.1 CAR的构建原理 CAR需要体外人工合成, 其构建主要包含抗原结合部分、铰链、跨膜段及胞内信号段。通常情况下, 胞外段主要为抗原结合部分, 即单链抗

体scFv(single-chain antibody), 主要由识别肿瘤相关抗原(TAA)的抗体轻链可变区(V_L)、重链可变区(V_H)通过铰链连接而成。这种scFv可以识别多种肿瘤细胞如淋巴瘤、白血病、多发性骨髓瘤及多种实体肿瘤细胞表面表达的靶抗原即肿瘤相关抗原。这种scFv可以使T细胞以非主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制识别并杀伤肿瘤细胞, 从而用于CAR的靶点增多, 且不局限于蛋白抗原, 也可以是糖类抗原等其他抗原^[2]。跨膜段可以是CD4、CD8、CD28、CD3 ζ 或Fc ϵ RI γ 的单链或者二聚体。细胞内信号段一直备受关注, 第一代的CAR主要是CD3 ζ 或者Fc ϵ RI γ , 虽然有抗肿瘤效果, 但作用短暂, 不能持续在体内发挥作用。因此, 第二代CAR在一代基础上引入1个共刺激分子(CD28、4-1BB或其他共刺激分子如CD134/OX40、CD137/4-1BB、Lck、CD27、CD224、ICOS及DAP10等)。在临床应用中, 第二代CAR表现出更好的体内扩增能力及抗肿瘤能力。第三代CAR是在一代的基础上加入两个或以上的共刺激分子, 其目的在于进一步促进T细胞的扩增、细胞毒效应及体内的存活时间, 在临床应用中发现其抗肿瘤效果增加, 但同时不良反应也增大。因此, 目前大量的临床研究都是评价二代CAR的设计^[3]。最新的研究把以上的CAR均称为传统CAR; 而把胞外段设计为非scFv的CAR称为生理CAR, 如把CD27全长、NKG2D、血管内皮生成因子等连接到CD3 ζ 的CAR; 而最新一代的

收稿日期: 2015-05-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(81228003; 81270642)

Supported by the National Nature Science Foundation of China(81228003; 81270642)

作者简介: 魏华萍, 女, 在读博士, 主治医师。研究方向: 血液病的诊治。Email: 453973231@qq.com

通信作者: 高春记, 男, 主任医师, 教授, 博士生导师。Email: gaochunji@hotmail.com

CAR, 又称为万能CAR, 其设计为生物素或抗-FITC的 scFv 作为胞外段连接到共刺激分子和 CD3 ζ 。这样的 CAR 可结合生物素或 FITC 标记的抗原特异性抗体或 scFv, 进而产生肿瘤杀伤效应^[4]。

1.2 CAR的效应细胞 构建好的 CAR 需要转导至患者的淋巴细胞中才能发挥抗肿瘤效应。用于临床治疗的效应细胞主要有两种, T 淋巴细胞及 NK 细胞。由于强大的细胞杀伤效应, 体内外容易培养、扩增及改造。目前 T 细胞是研究最早、最为透彻的细胞, 也是最常用的效应细胞。CAR T 细胞已经成功地应用于临床治疗 CD19⁺ 的急、慢性淋巴细胞白血病。CAR T 细胞治疗的弊端在于诱发细胞因子风暴, 在异基因造血干细胞移植的患者中, 可诱发并加重急性移植物抗宿主病 (graft versus host disease, GVHD)^[5]。目前的研究方向在于提高 CAR T 细胞抗肿瘤效应的同时减少其治疗的相关不良反应。

目前的研究改善了 CAR 效应细胞选择。在 T 细胞选择方面, 目前主要选择低分化初始 T 细胞和记忆性 T 细胞, 从而使 T 细胞长期存活, 更好地发挥抗肿瘤效应。此外, 在 T 细胞培养时, 加入 IL-7、IL-15 及 IL-21, 从而抑制 T 细胞的分化。另外, 细胞因子在 T 细胞的迁移及抗肿瘤过程中发挥重要作用, 新的研究正试图在 CAR T 细胞中共表达 CXCR2、CCR2b、IL-2、IL-12 等因子^[4,6], 从而促使 CAR T 细胞迁移到肿瘤部位, 以更好的发生杀伤肿瘤细胞效应。

NK 细胞 (CD3⁺CD56⁺) 占循环淋巴细胞的 20% ~ 30%, 是固有免疫系统的主要细胞, 其特点是迅速有效地杀伤病毒感染细胞及突变细胞。在抗肿瘤效应中, 由于非 MHC 的限制, 抗肿瘤效应强; 在造血干细胞移植患者中, 由于不产生 GVHD, 目前成为 CAR 治疗的新的效应细胞之一^[3], 并正在应用于早期临床实验。此外, NK T 细胞也被选为效应细胞用于 CAR 的研究, 由于 NK T 细胞的 CD1d 分子的单一性, 有效地减少了细胞毒性。研究者利用 NK T 细胞的这一免疫特性将其用于成纤维细胞瘤的治疗, 发现 GD2-CAR 转导 NK T 细胞在抗成纤维细胞瘤效应的同时不增加 GVHD 的发生^[7]。

1.3 CAR的体外包装系统 把体外构建的 CAR 转导至患者淋巴细胞的过程需要包装系统完成。病毒载体是 CAR 成功转入淋巴细胞的有效工具。 γ 逆转录病毒是最常用的载体, 能够相对简单、高效并持久地把 DNA 片段整合到人类淋巴细胞的宿主基因上, 使 CAR 得以表达, 且安全性高, 并可以应用于临床; 但其有使 CAR 基因末端长的重复序列表达沉默的潜在风险。此外, 慢病毒载体也是比较安全的载体, 但是价格较高。在新一代的 CAR 研究中, 研究者尝试在 CAR 中加入免疫调节因子如白介素 (IL)-12、IL-15、CCR2、IL-2 等大分子片段, 因而载体的选择尤其重要。相对高成本的病毒载体如 PiggyBac 或 Sleeping Beauty, 非病毒载体如含 CRISPR/Cas9 的载体和核转移基因转移系统 pmaxCloning 载体^[8] 都可应用于这种大分子片段的转染。这些新的载体系统都处于研究中, 进一步丰富及优化了 CAR 的构建及临床应用^[3,9]。

1.4 CAR细胞的体外扩增 CAR 细胞体外构建好以后必须能在体内外扩增才能达到临床应用。多个临床实验证实了 CAR T 细胞能够治疗多种恶性肿瘤, 虽然采用了共刺激分子, 但是扩增过程中大部分 CAR T 细胞必须在体外扩增到一定数量才能回输给患者, 而体外扩增中每一代细胞都有被污染的可能。因此, 必须保证扩增系统安全、高效。研究者最近设计了一种新的 CAR, 即在靶抗原的另一端连接一种 10 个氨基酸的独特的标签 (E-Tag), 通过加入相应抗体使 CAR T 细胞在体内大量扩增, 并通过这种独特的标签使 CAR T 细胞得以纯化^[10]。这种设计为以后 CAR T 细胞的免疫治疗效果提供了新的方法。

2 CAR细胞在多发性骨髓瘤中的应用

肿瘤特异性抗原高表达于肿瘤细胞表面, 表达 CAR 的淋巴细胞只有通过识别并和肿瘤抗原相结合才能识别并发挥抗肿瘤效应。在多发性骨髓瘤患者及细胞系中常见的肿瘤抗原: 1) CD74: 一种细胞膜表面 II 型跨膜糖蛋白, 参与 B 细胞的成熟过程, 在 B 淋巴细胞系恶性肿瘤尤其是多发性骨髓瘤细胞表面高表达, 与骨髓瘤萘环类药物耐药有关^[11]。抗 CD74 单抗治疗及阿霉素结合抗 CD74 单抗已用于临床实验治疗多发性骨髓瘤^[12-13]。因此, 有望将该抗原作为靶抗原应用于 CAR 的设计中, 成为多发性骨髓瘤新的治疗靶点。2) B 细胞成熟抗原 (B-cell maturation antigen, BCMA): 肿瘤坏死因子受体超家族成员之一, 正常情况下主要表达在浆细胞、成熟 B 细胞表面, 病理情况下是浆细胞系肿瘤的特异性抗原, 不表达在其他组织器官细胞表面, 在防止骨髓瘤细胞凋亡中发挥重要作用, 因而是 CAR 治疗的主要候选靶抗原之一^[14]。针对该特点, 有研究开展了抗-BCMA-CAR-转导的 T 细胞用于治疗多发性骨髓瘤的 I 期临床研究, 初步研究显示, 该 CAR T 细胞具有杀伤骨髓瘤细胞的作用^[15-16]。3) CD138: 又称类肝素样硫酸蛋白多糖, 最初在人骨髓瘤细胞上发现, 主要表达在正常浆细胞及骨髓瘤细胞表面, 主要介导细胞间黏附作用, 并参与调节细胞因子、生长因子的活性, 从而影响细胞的成熟及分化^[13,17]。研究证实, CD138₂₆₀₋₂₆₈ 抗原肽具有很强的免疫原性, 可诱导产生骨髓瘤抗原特异性效应^[18]。研究者最近开展了抗 CD138-CAR-转导 NK 细胞治疗多发性骨髓瘤的研究, 在细胞实验及动物实验中均发现其具有抗骨髓瘤效应, 但效果有一定的局限性^[19]。在进一步的研究中发现, 加入了干扰素 (interferon, IFN) 的抗 CD138-IFN α -CAR 能够抑制骨髓瘤细胞的生长并促进其凋亡, 同时在细胞系中降低 IFN 调节因子 4 的表达, 延长了骨髓瘤小鼠的生存期^[20]。这些研究都为多发性骨髓瘤的免疫治疗提供很好的应用前景。4) CS1: 一种细胞表面糖蛋白, 免疫球蛋白超家族成员之一, 在多发性骨髓瘤细胞系及多发性骨髓瘤患者的浆细胞表面高表达。在 MM 中, 主要参与骨髓瘤细胞黏附、生长和浸润^[13]。研究者首先研发了抗 CS1 单克隆抗体 HuLuc63^[21], I 期临床实验发现, 该抗体能发挥很好的抗骨髓瘤效应^[21], 同时也发现 CS1₂₃₉₋₂₄₇ 抗原肽具有很强的免疫原性^[18]。因此, 研究者以 CS1 为靶抗原设计的抗 CS1-CAR-转导 NK 细胞在动物

实验中能抑制杀伤骨髓瘤细胞并延长小鼠的生存期^[5], 在另一项动物实验中也证实了这一点^[22]。需进一步在临床实验中验证其效应。5) Lewis-Y (LeY): 高表达于许多上皮来源的恶性肿瘤细胞表面, 如直肠癌、膀胱癌、卵巢癌等。抗-LeY-CAR 转导 T 细胞最早用于治疗上述 LeY 抗原表达的恶性肿瘤^[23]。后来发现, LeY 抗原也表达于急性髓细胞性白血病及多发性骨髓瘤中, 并在 I 期临床试验中发现抗-LeY-CAR 转导 T 细胞具有抗多发性骨髓瘤及白血病效应^[24]。目前已经进入 II 期临床试验, 用于急性髓细胞性白血病患者^[25], 有望进入 III 期临床试验。6) 黏蛋白 1 (mucoprotein 1, MUC1): 主要表达在上皮细胞表面, 病理情况下也表达于多发性骨髓瘤细胞表面^[26]。目前 CAR T 细胞治疗恶性血液病的临床应用并不理想, 原因在于 CAR T 细胞在患者体内扩增困难, 存活时间短。因而学者在抗 MUC1-CAR T 细胞中连接了 IL-4 受体, 实验证实即使注射少量的抗 MUC1-CAR T 细胞也可以在体内明显扩增^[27]。

随着肿瘤的进展和复发, 肿瘤细胞表面的肿瘤抗原表达减弱或产生变异, 导致 CAR T 细胞治疗效果不佳, 因此, 有学者构建了同时能表达白介素-12 (IL-12) 的 CAR T 细胞。IL-12 不仅能募集并活化巨噬细胞, 还能协同 CAR T 细胞杀伤靶抗原表达减弱的肿瘤细胞^[28]。此外, 肿瘤细胞表面的靶抗原随着进展和复发而发生变化, 可产生不同的靶抗原, 或者多种靶抗原, 因此, 研究者尝试并设计出能识别两个靶抗原的 CAR, 但其毒性明显增强^[3]。最新的研究设计了抗生物素或异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 的 CAR T 细胞, 这种新的 CAR T 细胞通过表面的生物素或 FITC 可以和多种生物素或 FITC 包被的抗体结合, 通过抗体和靶抗原结合发挥杀伤效应^[29]。

3 CAR 细胞毒性及安全性

3.1 插入突变基因 在 CAR 的体外构建中, 存在片段体外扩增、病毒包装等过程, 在这些过程中很可能出现插入突变基因, 因此在这些构建过程中需要采用安全可靠的方法。长期以来, 人们都担心 CAR 技术可以导致插入突变基因, 但到目前为止在多发性骨髓瘤仍未观察到这种效应^[30]。

3.2 细胞因子释放综合征及肿瘤溶解综合征 细胞因子释放综合征及肿瘤溶解综合征是 CAR T 细胞治疗的主要并发症, 主要由于 CAR T 细胞活化释放大量细胞因子 (IL-6、IFN- γ 及 TNF- α 等) 入血, 以及 CAR T 细胞攻击肿瘤细胞后, 肿瘤细胞被破坏死亡, 核酸代谢产物 (尿酸、磷酸盐)、细胞内分子 (钾) 释放到外周血产生^[5-6]。但是, 细胞因子风暴与抗肿瘤效应正相关。细胞因子释放可导致巨噬细胞活化聚集, B 细胞、肿瘤细胞等溶解可释放高水平的 IL-6, 肿瘤负荷越高, 细胞因子释放越多, 患者的反应越强烈^[9]。为了防止细胞因子综合征的发生, 输注 CAR T 细胞应从小量开始, 逐步增加, 随时监控细胞因子水平, 必要时使用 IL-6 拮抗剂。在多发性骨髓瘤的治疗中, 目前并未发现此类反应, 由于病例数少, 不能排除以后临床研究中发现该不良反应。

3.3 “打靶” (on-target) 毒性 当正常组织细胞表面也同时

表达肿瘤相关抗原时, 即使表达量很低, 也会受到 CAR 细胞的攻击, 从而损伤正常组织细胞, 这种效应被称为“打靶”毒性^[31]。因此, 在设计 CAR 的时候, 要尽量寻找肿瘤特异性强的靶抗原。研究显示, 在以 CD19、CD20 为靶抗原的 CAR T 细胞治疗 B-CLL 时可以造成持续的 B 细胞发育不良产生的免疫损伤^[32-33]。在多发性骨髓瘤中, 由于多数靶抗原既存在于骨髓瘤细胞表面, 也存在于浆细胞及成熟 B 细胞表面, 虽然在动物实验中未发现, 但在临床应用中也可能存在“打靶”毒性, 损伤正常浆细胞及正常成熟 B 细胞。

3.4 “脱靶” (off-target) 效应 由于 CAR 细胞的识别靶位与机体正常组织细胞错误匹配, 导致 CAR 细胞错杀正常组织细胞, 称为“脱靶”效应^[34]。此外, 由于 CAR 细胞在体内存活时间长, 可产生攻击自身组织细胞的各种不良反应也为“脱靶”效应。为了减轻或避免这种不良反应, 一些学者采用组装有自杀基因的 CAR。最普遍使用的自杀基因为单纯疱疹病毒胸苷激酶 (HSP-tk)^[35]。有的研究者在改造 T 细胞时加入细胞凋亡蛋白酶 9 (Caspase9), 使 CAR T 细胞在发挥肿瘤杀伤效应后迅速凋亡, 从而避免了 CAR T 细胞治疗的长期不良反应^[36]。有的研究为了避免脱靶效应使用 CTLA-4 或者 PD-1 为基础的 CAR^[37]。除此以外, 由于 NK 细胞存活时间短、不良反应小, 为了避免“脱靶”效应, 可使用 NK 细胞。但是 NK 原代细胞转染困难, 很难体内扩增, 因此限制了其应用。但 NK-92 细胞系具有 NK 原代细胞的特点, 并可体外扩增, 因而两个研究中都采用了 NK-92 细胞系作为效应细胞以避免“脱靶”效应^[5,19]。在这两个动物实验中并未发现“脱靶”效应的产生, 但仍不能排除在人体试验中存在该效应。

4 结语

嵌合抗原受体修饰淋巴细胞作为一种新的免疫治疗方法, 正在大量开展研究并应用于恶性肿瘤治疗中, 有的 CAR 细胞在临床应用中取得了令人鼓舞的成绩。对于多发性骨髓瘤的免疫治疗一直是研究的热点, 我们期待这种新的治疗将来能够更有效、安全, 广泛应用于患者, 以延长患者的生存期并最终治愈疾病。

参考文献

- 1 Li ZH, Chen LP, Rubinstein MP. Cancer immunotherapy : are we there yet? [J] . *Exp Hematol Oncol*, 2013, 2 (1) : 33.
- 2 Cartellieri M, Bachmann M, Feldmann A, et al. Chimeric antigen receptor-engineered T cells for immunotherapy of cancer [J/O L] . [http : //www.hindawi.com/journals/bmri/2010/956304](http://www.hindawi.com/journals/bmri/2010/956304).
- 3 Ruella M, Kalos M. Adoptive immunotherapy for cancer [J] . *Immunol Rev*, 2014, 257 (1) : 14-38.
- 4 Shi H, Sun M, Liu L, et al. Chimeric antigen receptor for adoptive immunotherapy of cancer : latest research and future prospects [J] . *Mol Cancer*, 2014, 13 (1) : 219.
- 5 Chu J, Deng Y, Benson DM, et al. CS1-specific chimeric antigen receptor (CAR) -engineered natural killer cells enhance in vitro and in vivo antitumor activity against human multiple myeloma [J] . *Leukemia*, 2014, 28 (4) : 917-927.
- 6 Chmielewski M, Hombach AA, Abken H. Of CARs and TRUCKs : chimeric antigen receptor (CAR) T cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma [J] . *Immunol Rev*, 2014, 257 (1) : 83-90.

- 7 Heczey A, Liu D, Tian G, et al. Invariant NKT cells with chimeric antigen receptor provide a novel platform for safe and effective cancer immunotherapy [J]. *Blood*, 2014, 124 (18): 2824–2833.
- 8 Zhou X, Li J, Wang Z, et al. Cellular immunotherapy for carcinoma using genetically modified EGFR-specific T lymphocytes [J]. *Neoplasia*, 2013, 15 (5): 544–553.
- 9 Maus MV, Grupp SA, Porter DL, et al. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies [J]. *Blood*, 2014, 123 (17): 2625–2635.
- 10 Cartellieri M, Koristka S, Arndt C, et al. A novel ex vivo isolation and expansion procedure for chimeric antigen receptor engrafted human T cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (4): e93745.
- 11 Sapra P, Stein R, Pickett J, et al. Anti-CD74 antibody-doxorubicin conjugate, IMMU-110, in a human multiple myeloma xenograft and in monkeys [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11 (14): 5257–5264.
- 12 Yi Q. Novel immunotherapies [J]. *Cancer J*, 2009, 15 (6): 502–510.
- 13 Danylesko I, Beider K, Shimoni A, et al. Novel strategies for immunotherapy in multiple myeloma: previous experience and future directions [J/OL]. <http://www.hindawi.com/journals/jjr/2012/753407>.
- 14 Maus MV, June CH. Zoom Zoom: racing CARs for multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19 (8): 1917–1919.
- 15 Carpenter RO, Evbuomwan MO, Pittaluga S, et al. B-cell maturation antigen is a promising target for adoptive T-cell therapy of multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19 (8): 2048–2060.
- 16 Hinrichs CS, Rosenberg SA. Exploiting the curative potential of adoptive T-cell therapy for cancer [J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1): 56–71.
- 17 Bae J, Tai YT, Anderson KC, et al. Novel epitope evoking CD138 antigen-specific cytotoxic T lymphocytes targeting multiple myeloma and other plasma cell disorders [J]. *Br J Haematol*, 2011, 155 (3): 349–361.
- 18 Bae J, Smith R, Daley J, et al. Myeloma-specific multiple peptides able to generate cytotoxic T lymphocytes: a potential therapeutic application in multiple myeloma and other plasma cell disorders [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18 (17): 4850–4860.
- 19 Jiang H, Zhang W, Shang P, et al. Transfection of chimeric anti-CD138 gene enhances natural killer cell activation and killing of multiple myeloma cells [J]. *Mol Oncol*, 2014, 8 (2): 297–310.
- 20 Yoo EM, Trinh KR, Tran D, et al. Anti-CD138-targeted interferon is a potent therapeutic against multiple myeloma [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2015, 35 (4): 281–291.
- 21 Bae J, Song W, Smith R, et al. A novel immunogenic CS1-specific peptide inducing antigen-specific cytotoxic T lymphocytes targeting multiple myeloma [J]. *Br J Haematol*, 2012, 157 (6): 687–701.
- 22 Maus MV, June CH. CARTs on the road for myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20 (15): 3899–3901.
- 23 Westwood JA, Smyth MJ, Teng MW, et al. Adoptive transfer of T cells modified with a humanized chimeric receptor gene inhibits growth of Lewis-Y-expressing tumors in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102 (52): 19051–19056.
- 24 Peinert S, Prince HM, Guru PM, et al. Gene-modified T cells as immunotherapy for multiple myeloma and acute myeloid leukemia expressing the Lewis Y antigen [J]. *Gene Ther*, 2010, 17 (5): 678–686.
- 25 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.
- 26 Wilkie S, Picco G, Foster J, et al. Retargeting of human T cells to tumor-associated MUC1: the evolution of a chimeric antigen receptor [J]. *J Immunol*, 2008, 180 (7): 4901–4909.
- 27 Wilkie S, Burbidge SE, Chiapero-Stanke L, et al. Selective expansion of chimeric antigen receptor-targeted T-cells with potent effector function using interleukin-4 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (33): 25538–25544.
- 28 Chmielewski M, Kopecky C, Hombach AA, et al. IL-12 release by engineered T cells expressing chimeric antigen receptors can effectively Muster an antigen-independent macrophage response on tumor cells that have shut down tumor antigen expression [J]. *Cancer Res*, 2011, 71 (17): 5697–5706.
- 29 Tamada K, Geng D, Sakoda Y, et al. Redirecting gene-modified T cells toward various cancer types using tagged antibodies [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18 (23): 6436–6445.
- 30 Koehler P, Schmidt P, Hombach AA, et al. Engineered T cells for the adoptive therapy of B-cell chronic lymphocytic leukaemia [J/OL]. <http://www.hindawi.com/journals/ah/2012/595060>.
- 31 Lamers CH, Sleijfer S, Van Steenberg S, et al. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with CAIX CAR-engineered T cells: clinical evaluation and management of on-target toxicity [J]. *Mol Ther*, 2013, 21 (4): 904–912.
- 32 Vera J, Savoldo B, Vigouroux S, et al. T lymphocytes redirected against the kappa light chain of human immunoglobulin efficiently kill mature B lymphocyte-derived malignant cells [J]. *Blood*, 2006, 108 (12): 3890–3897.
- 33 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.
- 34 Gschwend E, De Oliveira S, Kohn DB. Hematopoietic stem cells for cancer immunotherapy [J]. *Immunol Rev*, 2014, 257 (1, SI): 237–249.
- 35 Essand M, Loskog A. Genetically engineered T cells for the treatment of cancer [J]. *J Intern Med*, 2013, 273 (2): 166–181.
- 36 Di Stasi A, Tey SK, Dotti G, et al. Inducible apoptosis as a safety Switch for adoptive cell therapy [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365 (18): 1673–1683.
- 37 Fedorov VD, Themeli M, Sadelain M. PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5 (215): 215ra172.