

CAR-T 细胞免疫疗法的研究进展

郑乃溶 徐建青[△]

(复旦大学生物医学研究院 上海 200032)

【摘要】 嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)免疫治疗可以精准靶向癌细胞,在肿瘤(尤其是淋巴瘤)的临床治疗上表现出良好的效果,是近年来受到广泛关注的一种肿瘤免疫治疗方法。目前 CAR-T 在淋巴瘤中的应用趋于成熟,但在实体瘤中由于肿瘤微环境等因素导致 CAR-T 疗法应用受限。本文概述了当前 CAR-T 免疫疗法面临的挑战及相关机制研究,如靶向肿瘤的特异性、安全性以及 CAR-T 的持久性等,同时聚焦针对这些挑战对 CAR-T 的 CAR 结构设计进行优化的研究进展。

【关键词】 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T); 肿瘤; 细胞免疫疗法; 优化

【中图分类号】 R73-36+2 **【文献标志码】** B **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2022.02.020

Research progress of CAR-T cell immunotherapy

ZHENG Nai-rong, XU Jian-qing[△]

(Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 Chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) immunotherapy, which can target the tumor accurately, presents a good therapeutic effect clinically, especially in lymphoma, and is also a research hotspot of tumor immunotherapy that has been studied in recent years. So far, the application of CAR-T in lymphoma has become mature, but in solid tumors, it is limited due to many factors such as tumor microenvironment. This review summarizes the three major challenges currently faced by CAR-T immunotherapy, such as the specificity of targeted tumors, the safety and persistence of CAR-T, and the study of related mechanisms. At the same time, it also focuses on the research progress of optimizing the CAR structure design of CAR-T in response to these challenges.

【Key words】 chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T); tumor; cell immunotherapy; optimization

* This work was supported by the Three-year Clinical Action Plan of Shanghai Shenkang Hospital Development Center (SHDC2020CR3002A).

嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)免疫疗法通过对人体 T 细胞进行工程化改造,使 T 细胞可以特异性靶向清除肿瘤细胞,从而达到精准治疗癌症的目的。目前 CAR-T 免疫疗法尚不完善,在临床治疗上仍存在许多问题,如对肿瘤识别特异性不强、安全性不高、CAR-T 在体内的持久性较差等。研究人员对 CAR-T 进行了改良,以达到在临床应用中更安全、抗肿瘤效果

更好的目标。本文主要对 CAR-T 面临的挑战和优化策略作一综述。

CAR-T 发展进程 CAR-T 免疫疗法中 CAR 的设计是关键, CAR 是融合了可以特异性识别抗原的单克隆抗体的单链可变片段(single-chain variable fragments, scFvs),包含可变重链区(variable heavy, V_H)和可变轻链区(variable light, V_L)与 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)的胞内信号传导域,且表达

上海申康医院发展中心临床三年行动计划(SHDC2020CR3002A)

[△]Corresponding author E-mail: xujianqing@fudan.edu.cn

网络首发时间:2022-02-26 11:35:21 网络首发地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20220224.1431.020.html

CAR的T细胞不受MHC限制。目前CAR已经发展到第四代。第一代CAR的scFv只整合了CD3 ζ 信号域,可以引发肿瘤特异性细胞毒性^[1]。部分第一代CAR-T细胞显示出长期持久性^[2],但是扩增有限且不能诱导有意义的抗肿瘤作用^[3]。第二代、第三代CAR在CD3 ζ 上游整合了1个或2个共刺激性结构域(通常是CD28或4-1BB),赋予了T细胞更有效的抗肿瘤细胞作用,同时增加细胞因子的产生,并改善了CAR-T细胞的增殖和持久性^[4-5]。第四代CAR也被称为“装甲CAR”。装甲,即赋予CAR-T一个装备,使其更强大。在第二代、第三代CAR基础上又整合了其他刺激性结构域,共表达一些关键的细胞因子或共刺激配体,旨在修饰肿瘤微环境,如炎症细胞因子IL-12^[6]、IL-18^[7]或CD40L^[8]分泌,以增强抗原交叉呈递并促进表位扩散。纵观这四代CAR,第一代抗肿瘤作用弱,第三、四代虽然T细胞对肿瘤杀伤能力增强但给机体带来的毒副作用也随之增加,相较第三、四代而言,第二代CAR相对温和,在肿瘤治疗中应用更广泛。

CAR-T细胞疗法面临的挑战 当前CAR-T免疫疗法尚未被广泛应用是因为面临三重挑战。

挑战一:克服CAR-T脱靶问题,提升特异识别能力。 CAR-T细胞只有对肿瘤表面抗原进行特异性识别,才能确保其仅攻击肿瘤细胞而不对正常组织造成损伤。然而,多项研究表明肿瘤会通过下调或丢失表面抗原来逃逸免疫系统识别,如用靶向CD19的CAR-T去治疗B细胞淋巴瘤后,高达60%的复发以CD19抗原丢失为特征。其中可能的原因是,CD19外显子2~5中发生基因突变,导致CD19蛋白丢失而无法被CAR-T识别^[9]。在实体瘤中,因异质性和肿瘤微环境使得CAR-T一方面很难找到特异性强、安全性高且不易脱靶的治疗靶点,另一方面肿瘤会被肿瘤微环境保护而免受CAR-T细胞攻击^[10],这些均导致CAR-T在实体瘤中的应用更为艰难。

挑战二:确保CAR-T应用的安全性。 安全性是应用CAR-T技术的前提条件。在表达CD19 CARs的患者T细胞治疗中观察到明显的毒性,如细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)。CRS的发生与巨噬细胞密不可分,巨噬细胞是炎症细胞因子的主要来源(如IL-6、IL-1和IFN- γ),同时可能参与内分泌和自我扩增的儿茶酚

胺环,这些环路可直接激活CRS期间巨噬细胞的产生和细胞因子的释放^[11]。最近研究揭示了CAR-T疗法中CRS的发生机制,CAR-T识别靶细胞后会释放穿孔素和颗粒酶B,激活caspase3-GSDME途径导致细胞焦亡而发生CRS^[12]。焦亡的细胞会刺激巨噬细胞激活caspase1-GSDMD产生IL-6和IL-1 β ,从而引发CRS。该团队还提出,与CAR-T靶向后的细胞不同,被天然T细胞靶向的细胞会经历凋亡途径而非焦亡。可能原因有二,一是CAR-T细胞释放的穿孔素/颗粒酶B比天然T细胞更多且亲和力更高;二是天然T细胞只诱导少量GSDME裂解而不会激活GSDMD^[12]。机制的阐明可为CAR-T疗法的优化提供新方向。

挑战三:维持CAR-T细胞在体内的持久力。 在慢性感染或癌症中,长期的抗原刺激会导致T细胞耗竭状,表现为表面表达多种抑制性受体,包括PD-1、TIM-3和LAG-3等,这些耗竭的T细胞增殖能力差、效应功能低^[13]。临床前和临床上有充分的证据表明CAR-T同样容易发生耗竭而限制疗效。在无反应者中,肿瘤浸润性CD19 CAR-T上的典型耗竭标志物比表现出完全应答的正常人更高^[14]。最新研究发现,*c-Jun*的功能缺陷是T细胞耗竭的关键所在,*c-Jun*是调节细胞蛋白质水平的主要基因,其缺陷会导致抑制T细胞活性的蛋白质增加^[15]。如何增强CAR-T在体内的持久性,有效提高CAR-T的抗肿瘤效力是CAR-T技术目前面临的问题之一。

CAR-T技术的优化与改良

增强CAR靶向特异性 针对阴性抗原癌细胞的逃逸,对scFv进行优化,通常将其设计为靶向两种抗原,其结合任一抗原都会触发CAR-T的激活。其中,一类是将编码不同CAR的两个载体共转导至单个T细胞^[16],或是构建一个双顺反子载体转导进细胞中,使每个细胞上表达两个单独的嵌合受体^[17];另一类是使用串联双特异性CAR,胞外部分的两个结合结构域任一对抗原识别即可触发效应子功能。使用双特异性CD20/CD19 CAR-T可治疗复发B细胞恶性肿瘤患者,I期临床结果显示在治疗28天后总缓解率达到82%,同时发现输注非低温保存的双特异性CD20/CD19 CAR-T效果更优,接受最高剂量且非低温保存的患者其28天总缓解率可高达100%,这又为CAR-T提出了一种可能

性^[18]。另有研究通过分泌由两个融合的 scFv 组成的双特异性 T 细胞接合剂 (bispecific T-cell engager, BiTE) 来促进内源性非工程 T 细胞与肿瘤细胞的接合。Choi 等^[19]设计了一种可分泌 EGFR/CD3 BiTE 的、靶向 EGFR-Ⅲ的 CAR-T 细胞来清除胶质母细胞瘤,已在小鼠模型中得到证实,在治疗 3 周后 80% 的小鼠表现出完全缓解,体内无肿瘤存在。这些很好地解决了胶质母细胞瘤由于异质性而难以被完全靶向清除的问题。

除 scFv 的优化,对胞外区也进行了改良。与传统 CAR-T 直接作用于靶细胞不同,研究人员提出了一个新的概念:模块化的 CAR-T(modular CAR-T, modCAR-T)。这类 CAR-T 通常与其衔接子共同作用,衔接子一端与 CAR-T 结合,另一端用于识别并结合肿瘤表面抗原。如此,既可以增加对抗原识别的特异性以减少肿瘤逃逸可能,又可以通过操纵衔接子来控制 T 细胞的激活状态,达到双重效果。CAR 衔接子可以是单克隆抗体、抗体片段、小分子或任何能够靶向至少一种所需抗原并可以被 modCAR-T 细胞同时识别的结构^[20]。各种药物的临床试验正在进行中,2020 年 Arndt 等^[21]的一篇综述对其进行了详细说明。

布尔逻辑门也已被 CAR-T 用于多种抗原的组合检测,有效靶向肿瘤的同时减少脱靶毒性,提高抗肿瘤功效。AND 门逻辑需要两种不同抗原同时存在来激活 CAR-T 细胞,从而降低脱靶识别或发生脱靶毒性的风险,能够防止表达与肿瘤细胞相同抗原的健康组织遭受攻击。人工合成的 Notch (synthetic Notch, synNotch) 受体识别细胞表面配体后能触发诱导的靶基因表达,它识别肿瘤相关因子 (tumor-associated antigen, TAA) 并诱导 CAR 的表达, CAR 可识别第 2 个 TAA 使 T 细胞活化^[22]。2018 年报道了一种 SUPRA CAR 系统,该系统通过表达多种受体来对工程化 T 细胞中的各种布尔逻辑门进行编程,每种受体具有通过亮氨酸拉链二聚化重建的多个潜在的衔接蛋白伴侣。这样的系统支持通过使用 AND 或 AND-NOT 门来提高特异性,同时通过不同的衔接蛋白靶向多种抗原以克服肿瘤异质性,还可通过调节衔接子来调控 CAR-T 活性以保障安全性^[23]。这种策略一旦被临床证明可行,必将会减少 CAR-T 的治疗成本。最近的一项研究设计了执行 AND、NOT、OR 布尔逻辑运算

的共定位依赖蛋白开关 (Co-LOCKR),当满足所有条件时,这些开关才会通过构象变化激活。该策略通过 AND 门来重定向 T 细胞对表达两种表面抗原的肿瘤细胞的特异性识别,以避免识别单抗原细胞发生脱靶,又通过添加 NOT 或 OR 逻辑以避免或包括表达第 3 种抗原的细胞。该方法的优势在于可以通过 Co-LOCKR 使多个抗原信号最终整合为同一个输出信号来达到通用的目的^[24],不过目前仅在体外证明了该方法的精准靶向潜力,应用于临床仍面临各种挑战。

增强 CAR-T 疗法安全性 目前可以通过降低 CAR-T 剂量以及使用类固醇疗法或阻断 IL-6R 的抗体来治疗 CRS。Tocilizumab 于 2017 年 8 月被 FDA 批准用于治疗 CAR-T 免疫疗法后发生的 CRS,效果显著。Staedtke 等^[25]的研究表明儿茶酚胺阻断剂可抑制巨噬细胞释放炎症因子。根据对 CAR-T 引发 CRS 的最新机制研究,推测同时阻断儿茶酚胺和 GSDME 或许有更好的效果^[12]。常规的 CAR-T 细胞组成性表达 CAR,能够在抗原刺激后发出信号,这种持续激活的状态容易引发细胞因子风暴。当前方法主要集中在条件性调节 CAR-T 的激活状态或在 CAR-T 发挥作用后对其及时清除,避免 CAR-T 长时间驻留体内引发细胞因子风暴。

首先是利用基于四环素的基因表达控制系统来条件性诱导 CAR 基因表达。一项研究通过引入 Tet-ON 3G 系统,诱导针对肝细胞癌肿瘤相关抗原 CD147 的 CAR 表达。小分子强力霉素 (Dox) 充当“ON 开关”,在 Dox 存在的情况下,逆四环素反式激活蛋白诱导 CD147-CAR 表达,CD147-CAR 的表达和活性在体外和体内都受到 Dox 的控制,且体内研究表明通过多次肿瘤内给药, (Dox+) Tet-CD147 CAR-T 显著抑制裸鼠的肿瘤生长^[26]。相反,在 Tet-OFF 系统中, Dox 通过取消四环素反式激活剂激活 CAR 转录的能力而充当“OFF 开关”。该系统被用于可逆地抑制 CD5 CAR-T 中有害的 CAR 信号和 T 细胞杀伤剂^[27]。最近提出了一种新的方法,其不依赖转基因介导的控制机制,而是使用基因组编辑通过破坏新陈代谢的关键基因来创造营养缺陷型。该研究敲除了 T 细胞和干细胞中的尿苷单磷酸合成酶基因,使细胞增殖依赖于外部尿苷,在体外和体内的异种移植模型中都能通过调节尿苷供应来控制细胞生长^[28]。复旦大学徐建青团队针对肿瘤

微环境低氧的特征,设计了一种缺氧诱导型 CAR (HiCAR),该 CAR-T 受缺氧反应元件驱动,包含氧依赖性降解域,其在常氧下发生降解,缺氧状态下稳定,这一特性不仅增强了缺氧条件下其对肿瘤细胞的毒性,同时保障了安全性^[29]。

还有一些研究致力于通过使用小分子药物诱导自杀基因表达来实现 CAR-T 的“自杀”途径。在 CAR-T 中表达诱导型胱天蛋白酶 9 (induced caspase 9, iCasp9) 自杀基因,小分子 AP1903 可以激活 caspase 9 使细胞凋亡^[30]。最近该方法用于浆细胞恶性多发性骨髓瘤的治疗研究中,表达抗 SLAMF7 CAR 和自杀基因的 T 细胞在体外特异性识别 SLAMF7,消除了小鼠体内的肿瘤^[31]。使用二聚剂 AP1903 可按需消除表达该构建体的 T 细胞,保证安全性,临床上将继续测试其可行性。

增强 CAR-T 细胞的持久性 一名 78 岁的慢性淋巴细胞白血病患者病情在输注 CAR-T 后得到深度缓解,这是由单个 CAR 诱导的 T 细胞克隆大量扩增所致,该 CAR-T 单克隆特别之处在于其双等位基因 *TET2* 功能异常。由此获得启发,发现实验性敲除 *TET2* 可使 CAR-T 细胞效力、扩增能力、持久性和记忆样表型均增强^[32],这一偶然发现为 CAR-T 之后的改进提供了思路。还有研究将 CAR 转基因插入 T 细胞受体 α 恒定区 (T-cell receptor α constant, TRAC) 位点,并内源性控制 CAR 表达,可防止临床前白血病模型中的耗竭^[33]。一种可循环的 CAR 通过突变 CAR 胞质域中所有的赖氨酸来阻止泛素化的发生,从而使 CAR 蛋白不会被溶酶体降解,抑制 CAR 下调、增强 CAR 返回细胞表面的循环,最终促进 CAR 的持久性及持续抗肿瘤效力^[34]。将 CD3 ϵ 胞质域掺入第二代 CAR 中可改善 CAR-T 细胞的抗肿瘤活性。CD3 ϵ 的免疫受体基于酪氨酸的活化基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM) 单磷酸化会招募抑制性 Csk 激酶,减弱 TCR 信号,减少 CAR-T 细胞因子的产生,而 CD3 ϵ 的基本残基富集序列 (basic residue rich sequence, BRS) 则通过募集 p85 促进 CAR-T 的持久性^[35]。以上方法尚停留在初期基础研究阶段,仅提供新的研究方向,未经临床试验证明。

结语 目前 CAR-T 细胞疗法研究热点主要集中在特异性、安全性及持久性这 3 个方面,这也是 CAR-T 疗法走向临床的前提条件。进一步探究平

衡 CAR-T 疗法的有效性与安全性之间的关系以及 CAR-T 细胞的贮存、运输,是未来实现 CAR-T 广泛应用的前提。CAR-T 免疫疗法应用前景十分广阔,必将给人类肿瘤等疾病的治疗带来重大突破。

作者贡献声明 郑乃溶 文献调研和整理,论文构思和撰写。徐建青 论文审校和修订。

利益冲突声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] ESHHAR Z, WAKS T, GROSS G, *et al.* Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(2): 720-724.
- [2] SCHOLLER J, BRADY TL, BINDER-SCHOLL G, *et al.* Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells [J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(132): 132ra53.
- [3] KERSHAW MH, WESTWOOD JA, PARKER LL, *et al.* A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20 Pt 1): 6106-6115.
- [4] BRENTJENS RJ, SANTOS E, NIKHAMIN Y, *et al.* Genetically targeted T cells eradicate systemic acute lymphoblastic leukemia xenografts [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(18 Pt 1): 5426-5435.
- [5] IMAI C, MIHARA K, ANDREANSKY M, *et al.* Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2004, 18(4): 676-684.
- [6] KONERU M, PURDON TJ, SPRIGGS D, *et al.* IL-12 secreting tumor-targeted chimeric antigen receptor T cells eradicate ovarian tumors *in vivo* [J]. *Onco Immunol*, 2015, 4(3): e994446.
- [7] AVANZI MP, YEKU O, LI X, *et al.* Engineered tumor-targeted T cells mediate enhanced anti-tumor efficacy both directly and through activation of the endogenous immune system [J]. *Cell Rep*, 2018, 23(7): 2130-2141.
- [8] CURRAN KJ, SEINSTRBA BA, NIKHAMIN Y, *et al.* Enhancing antitumor efficacy of chimeric antigen receptor T cells through constitutive CD40L expression [J]. *Mol Ther*, 2015, 23(4): 769-778.
- [9] ORLANDO EJ, HAN X, TRIBOULEY C, *et al.* Genetic mechanisms of target antigen loss in CAR19 therapy of

- acute lymphoblastic leukemia[J].*Nat Med*, 2018, 24(10): 1504-1506.
- [10] RODRIGUEZ-GARCIA A, PALAZON A, NOGUERA-ORTEGA E, *et al*. CAR-T cells hit the tumor microenvironment: strategies to overcome tumor escape[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1109.
- [11] HAO Z, LI R, MENG L, *et al*. Macrophage, the potential key mediator in CAR-T related CRS [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2020, 9(1): 1-12.
- [12] LIU Y, FANG Y, CHEN X, *et al*. Gasdermin E-mediated target cell pyroptosis by CAR T cells triggers cytokine release syndrome[J]. *Sci Immunol*, 2020, 5(43): eaax7969.
- [13] ANDO M, ITO M, SRIRAT T, *et al*. Memory T cell, exhaustion, and tumor immunity[J]. *Immunol Med*, 2020, 43(1): 1-9.
- [14] SCHUSTER SJ, SVOBODA J, CHONG EA, *et al*. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(26): 2545-2554.
- [15] LYNN RC, WEBER EW, SOTILLO E, *et al*. c-Jun overexpression in CAR T cells induces exhaustion resistance[J]. *Nature*, 2019, 576(7786): 293-300.
- [16] 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.
- [17] MAJZNER RG, MACKALL CL. Tumor antigen escape from CAR T-cell therapy[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(10): 1219-1226.
- [18] SHAH NN, JOHNSON BD, SCHNEIDER D, *et al*. Bispecific anti-CD20, anti-CD19 CAR T cells for relapsed B cell malignancies: a phase 1 dose escalation and expansion trial[J]. *Nat Med*, 2020, 26(10): 1569-1575.
- [19] CHOI BD, YU X, CASTANO AP, *et al*. CAR-T cells secreting BiTEs circumvent antigen escape without detectable toxicity[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(9): 1049-1058.
- [20] DAROWSKI D, KOBOLD S, JOST C, *et al*. Combining the best of two worlds: highly flexible chimeric antigen receptor adaptor molecules (CAR-adaptors) for the recruitment of chimeric antigen receptor T cells[J]. *MAbs*, 2019, 11(4): 621-631.
- [21] ARNDT C, FASSLRINER F, LOUREIRO LR, *et al*. Adaptor CAR platforms-next generation of T cell-based cancer immunotherapy [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(5): 1302.
- [22] ROYBAL KT, RUPP LJ, MORSUT L, *et al*. Precision tumor recognition by T cells with combinatorial antigen-sensing circuits[J]. *Cell*, 2016, 164(4): 770-779.
- [23] CHO JH, COLLINS JJ, WONG WW. Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses[J]. *Cell*, 2018, 173(6): 1426-1438.e11.
- [24] LAJOIE MJ, BOYKEN SE, SALTER AI, *et al*. Designed protein logic to target cells with precise combinations of surface antigens[J]. *Science*, 2020, 369(6511): 1637-1643.
- [25] STAEDTKE V, BAI RY, KIM K, *et al*. Disruption of a self-amplifying catecholamine loop reduces cytokine release syndrome[J]. *Nature*, 2018, 564(7735): 273-277.
- [26] ZHANG RY, WEI D, LIU ZK, *et al*. Doxycycline inducible chimeric antigen receptor T cells targeting CD147 for hepatocellular carcinoma therapy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 233.
- [27] MAMONKIN M, MUKHERJEE M, SRINIVASAN M, *et al*. Reversible transgene expression reduces fratricide and permits 4-1BB costimulation of CAR T cells directed to T-cell malignancies [J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(1): 47-58.
- [28] WIEBKING V, PATTERSON JO, MARTIN R, *et al*. Metabolic engineering generates a transgene-free safety switch for cell therapy [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(12): 1441-1450.
- [29] LIAO QB, HE H, MAO YY, *et al*. Engineering T cells with hypoxia-inducible chimeric antigen receptor (HiCAR) for selective tumor killing [J]. *Biomark Res*, 2020, 8(1): 56.
- [30] STRAATHOF KC, PULÈ MA, YOTNDA P, *et al*. An inducible caspase 9 safety switch for T-cell therapy [J]. *Blood*, 2005, 105(11): 4247-4254.
- [31] AMATYA C, PEGUES MA, LAM N, *et al*. Development of CAR T cells expressing a suicide gene plus a chimeric antigen receptor targeting signaling lymphocytic-activation molecule F7 [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(2): 702-717.
- [32] FRAIETTA JA, NOBLES CL, SAMMONS MA, *et al*. Disruption of TET2 promotes the therapeutic efficacy of CD19-targeted T cells [J]. *Nature*, 2018, 558(7709): 307-312.
- [33] 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.
- [34] LI W, QIU S, CHEN J, *et al*. Chimeric antigen receptor designed to prevent ubiquitination and downregulation showed durable antitumor efficacy [J]. *Immunity*, 2020, 53(2): 456-470.
- [35] WU W, ZHOU Q, MASUBUCHI T, *et al*. Multiple signaling roles of CD3 ϵ and its application in CAR-T cell therapy [J]. *Cell*, 2020, 182(4): 855-871.

(收稿日期: 2021-02-06; 编辑: 段佳)