

CAR-T 在实体瘤中的研究进展

王泽凡¹, 兰霞斌², 温庆良³, 项芳悦⁴, 葛明华⁵

(1. 杭州师范大学医学院, 浙江 杭州 310018; 2. 中国科学院肿瘤与基础医学研究所, 中国科学院大学附属肿瘤医院, 浙江省肿瘤医院, 浙江 杭州 310022; 3. 温州医科大学, 浙江 温州 325000; 4. 浙江中医药大学口腔医学院, 浙江 杭州 310053; 5. 浙江省人民医院, 浙江 杭州 310014)

摘要:嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)应用于急性 B 淋巴细胞白血病治疗中取得的成功, 证实了 CAR-T 疗法的临床价值。这也激发了许多研究者对 CAR-T 技术在实体瘤中运用的研究兴趣, 多项 CAR-T 细胞治疗实体瘤的基础和早期临床试验正在开展。然而实体瘤和血液肿瘤在性质上的差异决定了 CAR-T 必须克服实体瘤微环境、靶点缺乏、归巢和活化维持等难关才能获得更好的预后。该文将从 CAR-T 治疗实体瘤的现状、存在的问题及解决方案等方面介绍 CAR-T 细胞治疗实体瘤的研究进展。

关键词:嵌合抗原受体; 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T); 免疫治疗; 实体瘤

中图分类号: R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2019)09-0699-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.09.A011

Research Progress on CAR-T Therapy in Treatment of Solid Tumors

WANG Ze-fan¹, LAN Xia-bin², WEN Qin-liang³, XIANG Fang-yue⁴, GE Ming-hua⁵

(1. College of Medicine, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310018, China; 2. Institute of Cancer and Basic Medicine (ICBM), Chinese Academy of Sciences, Cancer Hospital of the University of Chinese Academy of Sciences, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, China; 3. Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China; 4. Stomatology College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 5. Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China)

Abstract: The success of chimeric antigen receptor T-cell(CAR-T) in the treatment of acute B lymphocytic leukemia confirms the clinical value of CAR-T immunotherapy. This has also stimulated many researchers' interest in the application of CAR-T in treatment of solid tumors. Many pre-clinical and clinical trials of CAR-T therapy for solid tumors are underway. However, the difference in properties between solid tumors and hematological tumors determines that CAR-T therapy must be optimized to overcome some unique obstacles, such as tumor microenvironment, lack of tumor-specific targets, difficulty of homing, and maintenance of activity. This article reviews the research progress, problems, and solutions of CAR-T treatment for solid tumors.

Key words: chimeric antigen receptor; chimeric antigen receptor T-cell(CAR-T); immunotherapy; solid tumors

近年来,嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)疗法发展迅速。采集患者外周血单个核细胞并分离出 T 细胞, 采用基因重组技术将目标抗原靶点的单链抗体片段(single chain antibody fragment, scFv)与 T 细胞活化基序结合形成质粒, 通过慢病毒、 γ 逆转录病毒载体等方法将质粒传导至 T 细胞, 使 T 细胞表面表达嵌合抗原受体

(chimeric antigen receptor, CAR), 生成 CAR-T 细胞^[1]。其在体内通过 CAR 与靶点特异性结合、杀伤肿瘤细胞而无需主要组织相容性抗原复合物(major histocompatibility complex, MHC)的参与^[1]。临床研究证明, 运用靶向 CD19 的 CAR-T 治疗青少年急性 B 淋巴细胞白血病可大幅改善患者的预后。2017 年 8 月 30 日, 美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了首个 CAR-T 疗法“Kymriah”上市, 激发了研究者对 CAR-T 治疗拓展应用于实体瘤的研究热情。但相比血液系统肿瘤, 实体肿瘤

收稿日期: 2019-03-27; 修回日期: 2019-06-09

基金项目: 国家自然科学基金(81672642)

通信作者: 葛明华, E-mail: gemingh@163.com

缺乏特异性靶点且易受肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)的干扰等,成为 CAR-T 治疗实体肿瘤的一大障碍。本文将重点介绍 CAR-T 治疗实体瘤现状、所面临的困难及相关思考。

1 CAR-T 治疗实体瘤现状

目前,在 CAR-T 治疗实体瘤的临床试验中常用靶点有 HER2^[2-4]、EGFR^[5,6]、间皮素^[7,8]、GD2^[9]、CD133^[10]、PSMA^[11]、CEA^[12]和 GPC3^[13]等,涉及肿瘤类型包括胰腺癌、胆管癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、结肠癌和神经母细胞瘤等,治疗剂量的选择一般依据患者体重或表面积决定。表 1(Table 1)整理的 12 项临床试验结果显示:CAR-T 在各种实体瘤患者体内的活化维持时间从 22d^[7]到 9 个月^[2]不等。治疗后最低 24%^[2]、最高 100%^[8]的患者病情稳定(stable disease, SD);除 Beatty 等^[7]在总样本量为 1 例间皮瘤患者的试验中获得部分缓解(partial response, PR),其余各项试验的 PR 率从 7%^[3]到 83%^[12]不等;完全缓解(complete response, CR)的病例见于 Guo 等^[5]和 Louis 等^[9]的研究。

这些早期临床试验中虽取得了一定的成果,但与 CAR-T 在血液系统肿瘤中的预后相比仍不能令人满意,其原因可能有:①缺乏均匀表达于实体瘤表

面的肿瘤特异性抗原;②目前使用的 CAR-T 必须通过血液到达实体瘤靶点,存在趋化因子受体错配以及难以穿透基质等困难;③CAR-T 进入 TME 后,渗透、扩增并与靶点特异性结合时受到免疫抑制因素的贬损作用;④CAR-T 与靶点结合后,T 细胞耗竭增加、活性维持时间降低。

2 问题与思考

2.1 特异性抗原的缺乏

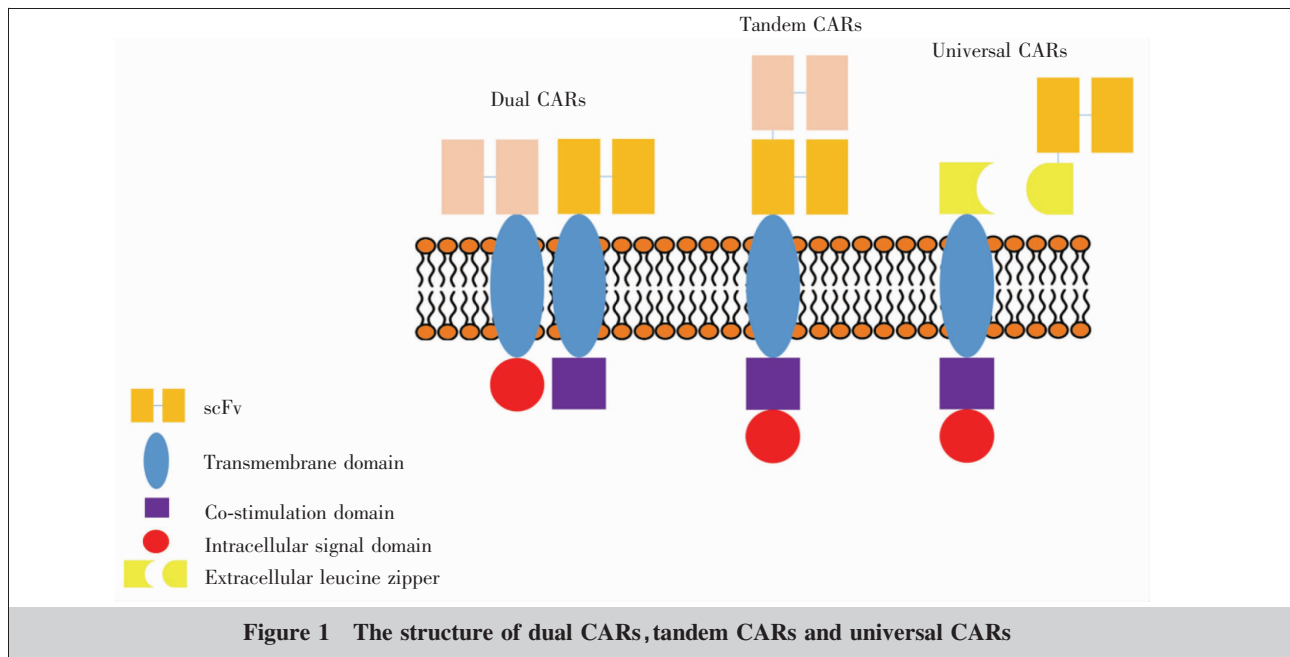
对于大多数实体瘤,可作为靶点的肿瘤标志物或特异性分子突变通常表达于细胞内或细胞表面,且特异性不高。此外,实体瘤的异质性使不同患者、不同转移部位的肿瘤即使亚型相同遗传类型也不同^[14],这些特性使 CAR-T 治疗实体瘤的效果不佳。通过 CAR 的重新设计,如双靶 CAR、“串联”CAR 和通用 CAR 等,可提高 CAR-T 结合实体瘤靶点的有效性,提升治疗效果(Figure 1)。

双靶 CAR (dual CARs) 可通过增加肿瘤表面“有效”抗原的数量,提高 CAR-T 与肿瘤细胞的结合效率。其含有两个靶向不同抗原的 scFv 结构域,当任一 scFv 与特定抗原结合时 CAR 即可被激活,当两个 scFv 均结合相应靶点时,可通过协同作用增强 T 细胞的活化^[15]。Kloss 等^[16]使用前列腺特异性膜

Table 1 Several published clinical trials of CAR-T cells for solid tumors

Target	Sample size	Cancer subtype	Dosage	Prognosis	Persistence
HER2 ^[2]	17	Sarcoma	(1×10 ⁴ ~1×10 ⁸)/m ²	4 SD	9 months
HER2 ^[3]	15	Glioblastoma	(1×10 ⁶ ~1×10 ⁸)/m ²	4 SD 1 PR	12 weeks
HER2 ^[4]	11	Biliary and pancreatic cancer	(1.4~3.8)×10 ⁶ /kg	5 SD 1 PR	80d
EGFR ^[5]	17	Biliary cancer	2.65×10 ⁶ /kg	10 SD 1 CR	1 month
EGFR ^[6]	11	Non-small cell lung cancer	0.97×10 ⁷ /kg	5 SD 2 PR	37 weeks
Mesothelin ^[7]	1	Mesothelioma	(0.1~1)×10 ⁹	1 PR	22d
Mesothelin ^[8]	6	Ovarian cancer	(3×10 ⁷ ~3×10 ⁸)/m ²	6 SD	—
GD2 ^[9]	11	Neuroblastoma	(1.2×10 ⁷ ~1.0×10 ¹⁰)/kg	3 CR	192 weeks
CD133 ^[10]	23	Hepatocellular carcinoma, pancreatic carcinoma and colorectal carcinoma	1.43×10 ⁶ /kg	14 SD 3 PR	2 months
PSMA ^[11]	5	Prostate cancer	1×10 ⁹ ~1×10 ¹⁰	2 PR	28d
CEA ^[12]	6	Colorectal carcinoma	(1×10 ⁸ ~1×10 ¹⁰)/kg	1 SD 5 PR	—
GPC3 ^[13]	11	Hepatocellular carcinoma	(0.92~8.72)×10 ⁷ /kg	3 SD 1 PR	—

Notes:SD:stable disease;PR:partial response;CR:complete response.



抗原(PSMA)和前列腺干细胞抗原(PSCA)开发了一种双靶 CAR-T。在小鼠前列腺癌模型中,研究人员证明 PSCA+ PSMA+ T 细胞能够根除 PSCA+ PSMA+ 的小鼠肿瘤,而 PSCA+PSMA- 的小鼠肿瘤对治疗反应差^[17]。

“串联”CAR(tandem CARs)可以提高 CAR-T 靶向结合的特异性,降低减少“脱靶效应”^[18]。其表达两个有着不同抗原结合域的 CAR,一个 CAR 连接胞内信号域,另一个连接胞内共刺激域,只有两个 CAR 均与其相应靶点结合才能激活 T 细胞。Hegde 等^[18]通过抗人表皮生长因子受体 2(HER2)scFv 和白介素 13 受体 $\alpha 2$ (IL-13R $\alpha 2$)创造了一种“串联”CAR,动物试验证明,这种“串联”CAR-T 能够克服抗原逃逸,增强抗肿瘤功效,在荷瘤动物试验中延长动物存活时间。

通用 CAR(universal CARs)可拓展 CAR 的靶向能力,即使一种 CAR-T 具备靶向不同抗原的能力^[19]。可溶性衔接子分裂 CAR 的抗原结合域和胞内结构域后,可激活通用 CAR-T 靶向其它肿瘤相关抗原。这样,不同可溶性衔接子可使一种 CAR-T 靶向多个抗原,对抗肿瘤异质性^[20],去除可溶性衔接子即可使通用 CAR-T 失活减轻不良反应^[20]。Cho 等^[21]优化了通用 CAR-T 技术,通过一种由“zipCAR”和“zipFv”片段组成的 CAR 构建体,建立了分离、通用、可编程(split universal and programmable,SUPRA)CAR-T。

“zipCAR”包含通过跨膜域连接到细胞外亮氨酸拉链的胞内信号域。“zipFv”含有与另一个亮氨酸拉链结合的 scFv 结构域。只有当“zipFv”片段通过相应亮氨酸拉链与“zipCAR”结合时,才能激活 CAR-T。研究人员发现,SUPRA CAR-T 可以有效对抗恶性血液系统肿瘤和实体瘤,通过添加 zipFv 片段可提高亮氨酸拉链的结合力和 IFN- γ 的表达水平从而抑制肿瘤生长。

2.2 TME 的抑制

TME 是由各种细胞、信号分子、可溶性因子、纤维化细胞外基质、基质元件和免疫调节细胞组成的复杂系统,在肿瘤发病机制、转移和治疗抵抗中起着至关重要的作用^[22]。设计能在 TME 中保持活性、对抗免疫抑制细胞因子的 CAR 可使 CAR-T 获得更好的抗肿瘤效果(Figure 2)。

TME 具有氧化应激、营养耗竭、酸性 pH 环境和缺氧等特性,可降低 CAR-T 细胞活性^[1]。Lightenberg 等^[23]的研究证明,共表达过氧化氢酶的 CAR-T 细胞可以保护其免受 TME 中活性氧簇导致的氧化应激损害。Juillerat 等^[24]发现共表达缺氧诱导因子(HIF1 α)的 CAR-T 可在 TME 中获得更强的细胞活性,在体外正常氧水平下这种 CAR 的表达低下,但在低氧条件下 CAR 表达水平显著提高。

TME 中的免疫调节细胞包括调节性 T 细胞(Tregs)、肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)和肿瘤相关中性

粒细胞(TANs)^[25]。TAMS 和 TANS 可与 Tregs 联合产生免疫抑制性细胞因子及相关配体,如转化生长因子 β (TGF- β)、精氨酸酶和程序性死亡配体-1(PD-L1)等,降低 CAR-T 的细胞毒性、增强肿瘤免疫逃逸^[25]。免疫调节细胞产生的吲哚胺 2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase,IDO),可将色氨酸分解为犬尿氨酸,引起 GCN2 活化和 mTOR 抑制,导致 CAR-T 细胞和 Treg 反应性降低使 CAR-T 细胞不能有效治疗表

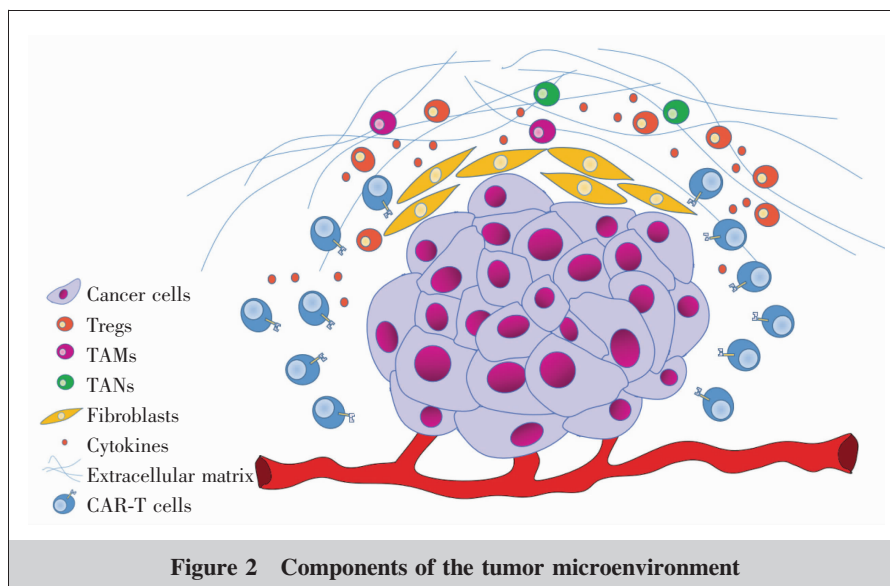
达 IDO 的肿瘤^[26]。Kloss 等^[27]设计了共表达显性失活 TGF- β RII 的 PSMA CAR-T,在 I 期临床试验中对 TGF- β RII 阳性前列腺癌患者的治疗结果显示,选择性消耗 Treg 治疗联合全身 PSMA CAR-T 治疗可使 Treg 释放的免疫抑制细胞因子如 TGF- β 、PD-1 和 IL-10 减少,提升 CAR-T 的疗效。

2.3 CAR-T 的归巢

CAR-T 有效的归巢取决于 CAR 表达的趋化因子受体(主要是 CXCR3 和 CCR5)与肿瘤表达的趋化因子之间相互匹配^[28],但理想的匹配很少发生。研究表明,设计表达特异性趋化因子受体及相关配体的 CAR-T 细胞或局部应用 CAR-T 可以改善 CAR-T 的归巢。

局部运用趋化因子或设计共表达趋化因子受体的 CAR 可使 T 细胞归巢能力增强。Moon 等^[29]运用痘苗病毒在小鼠间皮瘤模型中瘤内递送趋化因子 CXCL11 时,发现 CAR-T 浸润水平和抗肿瘤效果显著增加。之后,他们诱导靶向间皮素的 CAR-T 共表达 CXCL11,但发现其不能改善抗肿瘤活性。他们认为这是趋化因子的分泌诱导 T 细胞功能减退或 CXCL11 产生的抗血管生成作用导致的。Keishi 等^[30]诱导 CAR 表达 IL-7 和 CCL19,这种 CAR-T 在小鼠实体瘤模型中的反应比一般 CAR-T 更加强烈,并可获得肿瘤完全缓解、小鼠生存时间延长。免疫组织化学染色显示这种 CAR-T 对肿瘤组织的归巢能力更强。

研究发现,将 CAR-T 局部运用于肿瘤有助于归



巢,与全身给药相比局部注射需要的细胞数量更少、毒性反应更低^[31]。Adusumilli 等^[32]使用靶向间皮素的 M28z CAR-T 细胞进行了全身与局部注射的比较分析。在小鼠模型中,胸腔内局部给予 CAR-T 细胞可使抗肿瘤效果增强,CAR-T 细胞持续时间延长 200d,而采用全身输注 CAR-T 获得相似疗效需要相当于局部注射剂量 30 倍的 CAR-T。中枢神经系统由于血脑屏障的存在属于免疫豁免部位,全身运用 CAR-T 治疗中枢神经系统肿瘤效果差,而运用局部注射 CAR-T 可绕过血脑屏障直接作用于肿瘤。Priceman^[33]等在乳腺癌脑转移小鼠模型中发现,局部注射 CAR-T 可有效清除肿瘤。

2.4 CAR-T 的活化维持

T 细胞活化维持的时间和体内扩增速率都会影响患者的预后^[34]。虽然 CAR-T 在血液系统恶性肿瘤患者中可持续存在数月至数年,但在实体瘤患者体内的维持时间却明显减少^[4,5,11-13]。通过选用特定亚型的 T 细胞、诱导 CAR-T 细胞释放支持性细胞因子或敲除 T 细胞内的特定基因可以延长 CAR-T 在体内的活化时间。

研究表明,一些特定 T 细胞亚型的体内活化更持久。Sommermeier 等^[35]运用不同亚型的 T 细胞:幼稚性(TN)、效应性(TE)、中枢记忆性(TCM)和效应记忆性(TEM)T 细胞产生 CAR-T,发现来自 TN 和 TCM 的 CAR-T 细胞比来自 TEM 的 CAR-T 活性更强。Zheng 等^[36]发现,TEM 占总 T 细胞亚型百分比越

高的 CAR-T 细胞体内活化维持的时间越低,这可能是 PI3K 途径的激活,导致 CAR 通过 CD3 ζ 免疫受体酪氨酸活化基序持续传导信号使 CAR-T 的活性降低导致的。

支持性细胞因子可以增强 CAR-T 细胞功能,当 CAR-T 进入 TME 结合靶点后,添加支持性细胞因子为 T 细胞提供有利于其扩增、保持活性的环境可增强 CAR-T 的抗肿瘤功效。细胞因子的全身给药副作用大,通过将一段独立基因插入表达 CAR 的载体,使 CAR-T 局部释放支持性细胞因子的第四代“装甲”CAR-T 细胞(又称 TRUCKs)解决了这一难题。Chmielewski 等^[37]诱导第四代 CAR-T 释放 IL-12,可导致活化巨噬细胞的聚集,增强炎症反应对肿瘤细胞的破坏;释放 IL-18 则可使 TME 的免疫抑制性降低,其运用于对第二、三代 CAR-T 治疗抵抗的胰腺癌、肺癌中表现出增强的活性^[38]。Mohammed 等^[39]开发了一种特殊的靶向 PSCA 的第四代 CAR-T 细胞,其具有与 IL-7 受体胞内域融合的特殊 IL-4 受体结构域(4/7 ICR)。免疫抑制细胞因子 IL-4 的结合反而会导致 CAR-T 细胞内的激活信号发生级联反应,增强细胞活性。研究人员在 TME 内高表达 IL-4 的小鼠胰腺癌模型中证实,4/7 ICR CAR-T 具有更强的抗肿瘤效果。

通过 CRISPR/Cas9 技术敲除 *PD-1*、*LAG-3* 等基因可对抗相关免疫抑制配体、提升 CAR-T 活性^[40,41]。Hu 等^[42]运用敲除 *PD-1* 的靶向 CD133 CAR-T 治疗小鼠神经胶质瘤模型发现,与对照组相比,敲除 *PD-1* 的 CAR 可有效控制肿瘤生长。Fraietta 等^[43]报道了 1 例接受 CD19 CAR-T 治疗的慢性淋巴细胞白血病患者获得完全缓解,患者 94% 的 CAR-T 细胞为敲除了 *TET2* 基因的单克隆 CAR-T,其体内活性明显增强。

3 小结与展望

CAR-T 疗法被认为是最有可能治愈癌症的三大免疫治疗方法之一(免疫检查点抑制剂、CAR-T、肿瘤疫苗),其在血液系统肿瘤的成功运用使越来越多的研究者认识到 CAR-T 拓展运用于实体瘤的研究价值。然而实体瘤相比于血液系统肿瘤的特殊性质使得将 CAR-T 运用于实体瘤还需注意以下方面:①克服肿瘤微环境对 CAR-T 的负性作用;②攻克实

体瘤异质性、相关抗原特异性不高等难题;③诱导 CAR-T 的有效归巢;④改善 CAR-T 细胞的体内活性维持。近期研究表明,重新设计 CAR 可使其与靶点结合的特异性及有效性增加并减少肿瘤异质性导致的疗效不佳;通过对抗 TME 中的低氧、氧化应激等因素或诱导 CAR 释放某些细胞因子及受体可减轻 T 细胞在 TME 中的贬损;诱导 CAR-T 产生趋化因子或受体、局部使用 CAR-T 等方法可增强其有效归巢;选用某一特定表型的 T 细胞生成 CAR-T,诱导 CAR-T 产生支持性细胞因子可提升 CAR-T 的体内活性维持;此外,基因编辑技术的引入也使得 CAR-T 活性提升。随着这些技术难题的不断突破,相信 CAR-T 将会在实体瘤的治疗中获得更好的效果。

参考文献:

- [1] Li J, Li W, Huang K, et al. Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) immunotherapy for solid tumors: lessons learned and strategies for moving forward [J]. J Hematol Oncol, 2018, 11(1): 22.
- [2] Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of HER2-positive sarcoma [J]. J Clin Oncol, 2015, 33(15): 1688-1696.
- [3] Ahmed N, Brawley V, Hegde M, et al. Autologous HER2 CMV bispecific CAR T cells are safe and demonstrate clinical benefit for glioblastoma in a phase I trial [J]. J Immunother Cancer, 2015, 3(2 Suppl): 11.
- [4] Feng K, Liu Y, Guo Y, et al. Phase I study of chimeric antigen receptor modified T cells in treating HER2-positive advanced biliary tract cancers and pancreatic cancers [J]. Protein Cell, 2018, 9(10): 838-847.
- [5] Guo Y, Feng K, Liu Y, et al. Phase I study of chimeric antigen receptor-modified T cells in patients with EGFR-positive advanced biliary tract cancers [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(6): 1277-1286.
- [6] Feng K, Guo Y, Dai 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 [J]. Sci China Life Sci, 2016, 59(5): 468-479.
- [7] Beatty GL, Haas AR, Maus MV, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce anti-tumor activity in solid malignancies [J]. Cancer Immunol Res, 2014, 2(2): 112-120.
- [8] Beatty GL, O'hara MH, Lacey SF, et al. Activity of mesothelin-specific chimeric antigen receptor T cells against pancreatic carcinoma metastases in a phase I trial [J]. Gastroenterology, 2018, 155(1): 29-32.
- [9] 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.
- [10] Wang Y, Chen M, Wu Z, et al. CD133-directed CAR T cells for advanced metastasis malignancies: a phase I trial [J]. Oncoimmunology, 2018, 7(7): e1440169.

- [11] Junghans RP, Ma Q, Rathore R, 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 [J]. *Prostate*, 2016, 76(14): 1257–1270.
- [12] Katz SC, Burga RA, McCormack E, et al. Phase I hepatic immunotherapy for metastases study of intra-arterial chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy for CEA+ liver metastases[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(14): 3149–3159.
- [13] Zhai B, Shi D, Gao H, et al. A phase I study of anti-GPC3 chimeric antigen receptor modified T cells (GPC3 CAR-T) in Chinese patients with refractory or relapsed GPC3 + hepatocellular carcinoma (r/r GPC3+ HCC)[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(15_Suppl): 3049.
- [14] Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes [J]. *Science*, 2013, 339 (6127): 1546–1558.
- [15] Grada Z, Hegde M, Byrd T, et al. TanCAR: a novel bispecific chimeric antigen receptor for cancer immunotherapy [J]. *Mol Ther Nucl Acid*, 2013, 2(7): e105.
- [16] Kloss CC, Condomines M, Cartellieri M, et al. Combinatorial antigen recognition with balanced signaling promotes selective tumor eradication by engineered T cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(1): 71–75.
- [17] Themeli M, Sadelain M. Combinatorial antigen targeting: ideal T-cell sensing and anti-tumor response [J]. *Trends Mol Med*, 2016, 22(4): 271–273.
- [18] Hegde M, Mukherjee M, Grada Z, et al. Tandem CAR T cells targeting HER2 and IL13R alpha2 mitigate tumor antigen escape[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(8): 3036–3052.
- [19] Lohmueller JJ, Ham JD, Kvorjak M, et al. mSA2 affinity-enhanced biotin-binding CAR T cells for universal tumor targeting[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 7(1): e1368604.
- [20] Zhao J, Lin Q, Song Y, et al. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR T cells [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 132.
- [21] 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.
- [22] Swartz MA, Iida N, Roberts EW, et al. Tumor microenvironment complexity: emerging roles in cancer therapy [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(10): 2473–2480.
- [23] Ligtenberg MA, Mougiakakos D, Mukhopadhyay M, et al. Co-expressed catalase protects chimeric antigen receptor-redirectioned T cells as well as bystander cells from oxidative stress-induced loss of antitumor activity[J]. *J Immunol*, 2015, 196(2): 759–766.
- [24] Juillerat A, Marechal A, Filhol JM, et al. An oxygen sensitive self-decision making engineered CAR T-cell [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 39833.
- [25] Newick K, Moon E, Albelda SM. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for solid tumors [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3: 16006.
- [26] Brochez L, Chevolet I, Kruse V. The rationale of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition for cancer therapy [J]. *Eur J Cancer*, 2017, 76: 167–182.
- [27] Kloss CC, Lee J, Zhang A, et al. Dominant-negative TGF- β receptor enhances PSMA-targeted human CAR T cell proliferation and augments prostate cancer eradication[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(7): 1855.
- [28] Harlin H, Meng Y, Peterson AC, et al. Chemokine expression in melanoma metastases associated with CD8+ T-cell recruitment[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(7): 3077–3085.
- [29] Moon EK, Wang LCS, Bekdache K, et al. Intra-tumoral delivery of CXCL11 via a vaccinia virus, but not by modified T cells, enhances the efficacy of adoptive T cell therapy and vaccines[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(3): e1395997.
- [30] Adachi K, Kano Y, Nagai T, et al. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(4): 346–351.
- [31] Smith TT, Moffett HF, Stephan SB, et al. Biopolymers codelivering engineered T cells and STING agonists can eliminate heterogeneous tumors[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(6): 2176.
- [32] Adusumilli PS, Leonid C, Jonathan VV, et al. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(261): 261ra151.
- [33] Priceman SJ, Tilakawardane D, Jeang B, et al. Regional delivery of chimeric antigen receptor-engineered T cells effectively targets HER2+ breast cancer metastasis to the brain[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(1): 95–105.
- [34] Zhu Y, Tan Y, Ou R, et al. Anti-CD19 chimeric antigen receptor-modified T cells for B-cell malignancies: a systematic review of efficacy and safety in clinical trials[J]. *Eur J Haematol*, 2016, 96(4): 389–396.
- [35] Sommermeyer D, Hudecek M, Kosasih PL, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8+ and CD4+ subsets confer superior antitumor reactivity in vivo[J]. *Leukemia*, 2016, 30(2): 492–500.
- [36] Zheng W, O’hear CE, Alli R, et al. PI3K orchestration of the in vivo persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. *Leukemia*, 2018, 32(5): 1157–1167.
- [37] Markus C, Caroline K, 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.
- [38] 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 [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(11): 3205–3219.
- [39] Mohammed S, Sukumaran S, Bajgain P, et al. Improving chimeric antigen receptor-modified T cell function by reversing the immunosuppressive tumor microenvironment of pancreatic cancer[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(1): 249.
- [40] Rupp LJ, Schumann K, Roybal KT, et al. CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances anti-tumor efficacy of human chimeric antigen receptor T cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 737.
- [41] Zhang Y, Zhang X, Cheng C, et al. CRISPR-Cas9 mediated LAG-3 disruption in CAR-T cells [J]. *Front Med*, 2017, 11(4): 554–562.
- [42] Hu B, Zou Y, Zhang L, et al. Nucleofection with plasmid DNA for CRISPR/Cas9-mediated inactivation of programmed cell death protein 1 in CD133-specific CAR T cells[J]. *Hum Gene Ther*, 2019, 30(4): 446–458.
- [43] 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.