

# 嵌合抗原受体 T 细胞治疗淋巴瘤的现状与展望

朱祎静<sup>1</sup>, 张 仪<sup>1</sup>, 尤良顺<sup>1</sup>, 童向民<sup>2</sup>

(1. 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003; 2. 浙江省人民医院, 浙江 杭州 310014)

**摘要:**近年来,随着免疫治疗和基因工程的兴起,嵌合型抗原受体 T 细胞疗法(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CART)由于其安全有效、患者耐受性好的特点,为复发/难治的淋巴瘤患者带来了新的希望。本文综述了 CART 的原理及免疫机制、CART 在淋巴瘤中的应用、CART 治疗面临的问题及 CART 治疗淋巴瘤的未来及展望。

**关键词:** CART 治疗; B 细胞淋巴瘤; 霍奇金淋巴瘤; 免疫治疗

**中图分类号:** R733 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2020)10-0787-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.10.A011

## Progress of Chimeric Antigen Receptor T-cell Immunotherapy(CART) in Treatment of Lymphoma

ZHU Yi-jing<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>1</sup>, YOU Liang-shun<sup>1</sup>, TONG Xiang-min<sup>2</sup>

(1. The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China;

2. Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China)

**Abstract:** In recent years, with the development of immunotherapy and genetic engineering, chimeric antigen receptor T cell therapy (CART) has brought new hope to patients with relapsed/refractory lymphoma due to its safe and effective characteristics and good patient tolerance. This article reviews the principles and immune mechanisms of CART therapy, the application of CART in lymphoma, the problems faced by CART, and the future and prospect of CART therapy for lymphoma.

**Key words:** chimeric antigen receptor T cell therapy; B-cell lymphoma; Hodgkin lymphoma; immunotherapy

淋巴瘤的常规治疗包括化疗、放疗及手术,但多数患者最终仍会复发或遭受化疗或放疗引起的严重副作用,所以找到一种持久有效且副作用小的治疗方式尤为重要,CART 治疗应运而生。CART 治疗又被称为第三代细胞免疫疗法,是通过基因转导使患者 T 淋巴细胞表达肿瘤抗原受体,再经过纯化、扩增后回输到体内使其特异性识别及杀伤肿瘤细胞的一种免疫治疗方法。CAR-T 细胞是改造后的自身细胞,故其排异反应小、患者耐受性好,并且经过改造方法的多次迭代,它能克服癌症的免疫逃逸机制、激活特异性免疫反应,靶向且相对持久地杀伤肿瘤细胞。

## 1 CART 的原理及机制

### 1.1 CAR 的跨膜设计

嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)是一种人工合成的跨膜结构,主要由三个域组成:胞外域、跨膜域和内域。胞外域是一个单链可变片段 scFv,通常为 CD3 $\zeta$ ,主要进行抗原识别。跨膜结构域主要保证 CAR 稳定性。胞内域为 T 细胞信号转导结构域,在抗原识别过程中促进信号转导从而激活 T 细胞发挥细胞毒性<sup>[1]</sup>。

第一代嵌合抗原受体(CAR)包括胞外抗原结合结构域和细胞内 T 细胞激活结构域,其 T 细胞依赖 IL-2 特异性杀伤肿瘤细胞。在第一代构建体的基础上构建的第二代 CAR 含有一个胞内共同刺激域(通

收稿日期:2020-06-30;修回日期:2020-08-03

基金项目:浙江省卫健委省部共建项目(WKJ-ZJ-1709)

通信作者:童向民, E-mail: tongxiangmin@163.com

常为 4-1BB 或 CD28), 其抗肿瘤活性及持久性更佳。第三代 CAR 组合了多个共刺激域 (可以是 4-1BB、CD28 或 OX40), 主要是为了增加 CAR-T 细胞的增殖和持久性<sup>[2]</sup>。

## 1.2 CART 治疗的免疫机制

在肿瘤的免疫应答过程中 T 淋巴细胞的杀伤作用非常关键, 但患者体内特异性杀伤肿瘤细胞的 T 细胞数量不多, 并且随着肿瘤不断增殖大量表达自体抗原, T 细胞被不断消耗, 导致其数量进一步减少。

CART 通过白细胞分离术从患者体内收集外周血单个核细胞, 利用基因转染技术将患者的 T 细胞与编码 CAR 的病毒载体一起孵育, 使该载体进入 T 细胞并引入 CAR 基因 RNA, 然后反转录为 DNA, 再重组为 T 细胞基因组, 从而导致永久性 CAR 基因掺入。转染后的 T 细胞群经过纯化及大规模扩增后变为 CAR-T 细胞群, 其特异性、杀伤活性及持久性得到升级, 能够克服肿瘤免疫逃逸与机体免疫耐受, 特异性识别并且高效地杀伤肿瘤细胞<sup>[3]</sup>。

# 2 CART 在淋巴瘤中的应用

## 2.1 B 细胞淋巴瘤

由于正常和恶性 B 细胞表面均特异性表达 CD19, 故 CD19-CART 被广泛用于治疗 B 淋巴细胞相关血液系统肿瘤<sup>[4]</sup>。Yescarta 是 FDA 在 2017 年批准的首款针对 NHL (non-Hodgkin's lymphoma) 的 CART 疗法, 主要用于接受过至少两次其他治疗但没有缓解或者复发的 DLBCL (diffuse large B-cell lymphoma)。这款药物的上市主要基于 I / II ZUMA-1 期试验 (NCT02348216), 其客观缓解率 (objective response rate, ORR) 为 82%, 中位反应时间为 1 个月, 中位持续时间为 8.1 个月, 18 个月总生存率为 59%。2018 年 5 月美国 FDA 批准将 Kymriah 用于治疗复发/难治性大 B 细胞淋巴瘤, 包括 DLBCL 及 FL (follicular lymphoma)。该批准主要基于 II 期 JULIET 临床试验 (NCT02445248) 结果, 患者人群 ORR 为 53.1%, 且总生存期达到 6 个月以上的患者占 64.5%<sup>[5]</sup>。实验表明, 患者在输注后 12 个月仍可在血液中检测到抗 CD19-CART 细胞<sup>[6]</sup>。最近的临床试验数据表明, 抗 CD19-CART 细胞对多种亚型 B 细胞淋巴瘤 (包括弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤和边缘区淋巴瘤) 均具有高效的杀伤性<sup>[7]</sup>, 并且有部分复发/难治的 DLBCL 患者获得了长期持续性完全缓解 (complete remission, CR)<sup>[8]</sup>。CART 治疗对于部分复发/难治性 B 细胞淋巴瘤患者疗效差的最大影响因素可能是存在大块实体肿瘤<sup>[9]</sup>, 与 CART 细胞难以归巢有关。另外, 组合型 CART 细胞治疗可能也是一种有效策略, 一例病例报告<sup>[10]</sup>显示, CD19-CART 细胞和 CD70-CART 细胞的组合治疗可以有效地靶向治疗 PCNS-DLBCL (primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma) 并保持无病生存, 而且不会诱导 CRS (cytokine release syndrome) 或 CRES (CAR-T cell related encephalopathy syndrome)。另一例<sup>[11]</sup>复发/难治性 Burkitt 淋巴瘤儿童患者, 在依次使用抗 CD19、抗 CD22 和抗 CD20 CAR-T 细胞治疗后获得长达 16 个月的 CR。CD19-CART 为复发/难治性 B-NHL 带来了新的希望。

## 2.2 NK/T 细胞淋巴瘤

由于正常 T 细胞和恶性 T 细胞的表面抗原大多数相同, CART 细胞在杀伤肿瘤细胞的同时也会杀伤正常 T 细胞从而导致免疫缺陷, 故在 T 细胞淋巴瘤治疗中设计合理的 CAR-T 细胞是非常具有挑战性的任务。例如, CD7 在 T 细胞恶性肿瘤 (包括 NK 细胞白血病/淋巴瘤) 上高度表达, 但同时也在正常 T 细胞上表达。目前有研究<sup>[12]</sup>使用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术将离体正常 T 细胞上的 CD7 和 T 细胞受体  $\alpha$  链的 TRAC 基因删除, 同时将靶向 CD7 的 CAR 导入该 T 细胞, 生成 UCART7。TRAC 缺失可阻断 TCR 介导的信号传导, 从而允许安全地使用同种异体 T 细胞作为 CAR-T 细胞的来源。这些 UCART7 细胞已被证实能够在体内和体外有效杀伤恶性 T 细胞肿瘤, 而不会引起危及生命的 GVHD (graft-versus-host diseases)。

另一项研究显示, 使用抗 CD5-CART 不仅可以体外有效杀伤 T 细胞肿瘤, 而且能一定程度避免正常 T 细胞减少, 这可能与自身 T 细胞的 CD5 下调有关<sup>[13]</sup>。最近发现 CD5-CAR NK-92 细胞能够显著抑制 T 细胞肿瘤, 改善患者结局。CAR-NK 疗法可能会成为治疗 T 细胞肿瘤的新策略<sup>[14]</sup>, 但是目前仍存在很多问题, 比如 CAR 结合表位的位置及其与 CAR-NK 细胞表面的距离会影响 CAR-NK 细胞的激活, 其次, NK 细胞对冻融过程敏感, NK 细胞的存活

率和细胞毒性在解冻后会显著降低,目前发现可以通过添加 IL-2 部分恢复冷冻 NK 细胞的活性<sup>[15]</sup>,而更多解决方案亟待探究。

### 2.3 霍奇金淋巴瘤

目前,霍奇金淋巴瘤的治疗方案主要采取化疗及放疗,超过 80%患者经过一线治疗能够达到治愈,但是仍有小部分患者在高剂量化疗联合放疗后或自体干细胞移植 (autologous stem cells transplantation, ASCT) 后复发,预后较差<sup>[16]</sup>。由于 Reed-Sternberg 细胞表面统一表达 CD30,抗 CD30-CART 可以为经典型复发/难治性 HL (Hodgkin's lymphoma) 的治疗提供新思路。针对 HL 的 CART 治疗研究目前相对较少,国内已有学者完成相关的 I 期临床试验,研究结果发现,抗 CD30-CART 治疗复发难治性 HL 可获得较为显著的临床疗效,其 ORR 为 39%,疾病控制率为 72%,平均无进展生存期为 9.5 个月,并且该疗法安全,患者耐受性好,未观察到严重副反应<sup>[17]</sup>。已知 HRS 细胞 (Hodgkin reed-stainberg cells) 起源于 B 细胞,但缺乏 CD19 表达,尽管如此,在循环中的某些 CD19 阳性 B 细胞仍被认为是 HRS 干细胞,故 Svoboda 等<sup>[18]</sup>提出使用非病毒 RNA 转染自体 T 细胞来制造 CART19 用于治疗复发/难治性 cHL (classical Hodgkin lymphoma) 患者,在 cHL 中使用抗 CD19-CART 治疗的另一个理由是,CART19 与正常 CD19 阳性 B 细胞结合所产生的细胞因子可能会改变肿瘤微环境并破坏其免疫抑制作用,经过初步研究表明,该设想可行并且显示出一定的安全性。但是,该治疗引起的抗肿瘤反应相对短暂,可能通过慢病毒转导 CART19 可以获得更好的持久性。另外,某些活化的正常 T 细胞表面也存在 CD30 的表达,如何避免自身 T 细胞减少也有待解决。

## 3 CART 治疗的不良反应

在接受 CART 治疗的患者中观察到的毒性反应通常在首次输注后的几天内出现。两种最常见的毒性是 CRS 和 NTX,均有潜在的致命性。

### 3.1 细胞因子释放综合征 (CRS)

CRS 是 CART 治疗后常见的严重不良反应之一,主要是由于治疗后释放大量的细胞因子引起大量非抗原特异性炎症反应所导致,通常与 IFN $\gamma$ 、IL-10、GM-CSF 和 IL-6 的升高以及 CAR-T 细胞扩增相

关<sup>[19]</sup>。CRS 临床表现包括持续性高热、恶心、食欲减退、血细胞减少、心动过速和/或低血压、心功能不全、肾功能不全、肝功能衰竭等<sup>[20]</sup>。CRS 严重程度与肿瘤负荷及 T 细胞增殖数量相关<sup>[21]</sup>。为减少不良反应的发生,可以在治疗前采取化疗来降低肿瘤负荷以及限制每次输注 CART 细胞的数量。当 CRS 发生时,应尽早发现并使用糖皮质激素或 IL-6 受体抗体阻断剂<sup>[22]</sup>。

### 3.2 神经毒性 (NTX)

NTX 可以表现为 CART 相关性脑病 (CRES),包括多种神经系统症状如意识错乱、谵妄、表达性失语症、肥胖、肌阵挛和癫痫发作<sup>[20,23]</sup>。迄今为止,尚不清楚 CRES 的因果关系,但研究表明,可能与 IL-6 的升高以及血脑屏障的破坏有关<sup>[24]</sup>。严重的 CRES 需要尽早使用地塞米松或甲基强的松龙进行治疗<sup>[23]</sup>。

### 3.3 脱靶效应

由于 CAR-T 细胞是通过靶抗原来识别肿瘤细胞,而正常细胞表面往往存在与肿瘤细胞相同的靶抗原,CAR-T 细胞可能导致正常细胞损伤引起脱靶效应。例如,CD19-CART 治疗可导致患者短期或长期 B 细胞发育不全,这是脱靶效应导致的结果之一,也是 CAR-T 细胞功能持续性的标志<sup>[25]</sup>。短期 B 细胞发育不全可以选择观察,而长期 B 细胞发育不全需要输注丙种免疫球蛋白来降低感染风险。

目前,解决和改善脱靶效应的思路主要有以下几点:①增强 CART 细胞的特异性,找到肿瘤特异性靶抗原,设计更具针对性的 CAR,例如双靶向 CARs;②增加负性调控 CAR-T 细胞的抗原识别信号通路,在不良反应发生时通过人工干预降低其对正常组织的杀伤性,例如导入自杀基因诱导其凋亡<sup>[26]</sup> (如 iCasp9 基因、HSV-TK 基因、EGFR 基因等)、构建抑制性 CARs<sup>[27]</sup> (如构建 PD-1 或 CTLA-4 受体的 iCAR);③降低 CAR-T 细胞的免疫原性,减少体内排斥反应,如使用人源化 scFv 段;④使 CAR-T 细胞暂时性表达 CAR,如构建 mRNA 编码的 CAR。另外,肿瘤内注射的方式可以增强抗肿瘤效应并减少肿瘤外脱靶效应。

## 4 CART 疗法的展望

目前,针对新型抗原 (例如 CD20、CD22、CD30 和  $\kappa$  轻链) 的 CAR 正在开发中,并将把 CAR-T 细胞



疗法的适用范围扩展到霍奇金淋巴瘤、T 细胞淋巴瘤及 CD19 阴性 B 细胞肿瘤中<sup>[28]</sup>。另外,评估新型和改良后 CART 疗法的安全性及可靠性还需要做大量的研究。

#### 4.1 新型抗原的 CAR

迄今为止,在 I/II a 期临床试验中的抗 CD20-CART 治疗 (NCT01735604) 已证明,与抗 CD19-CART 治疗相比,非霍奇金淋巴瘤(11 例)患者的缓解率相似(ORR=81.8%)<sup>[5]</sup>。另外,一项关于抗 CD30-CART 治疗的临床试验表明,针对 CD30 阳性的淋巴瘤患者该治疗是安全的,并已证明其在复发/难治性疾病患者中具有一定的活性<sup>[29]</sup>。在 I 期临床试验中,抗 CD30-CART 疗法还使霍奇金淋巴瘤(2/7)和间变性大细胞淋巴瘤(1/2)的患者获得了 CR<sup>[30]</sup>。关于抗 CD22-CART 细胞治疗的最新 I 期临床试验结果显示,患者 CR 率为 70%,中位总生存期为 13.4 个月(95%CI:7.7~20.3 个月),在获得 CR 的患者中,中位无复发生存期为 6.0 个月(95%CI:4.1~6.5 个月)<sup>[31]</sup>。

#### 4.2 双特异性 CAR-T 细胞

虽然目前抗 CD19-CART 治疗对于许多患者可获得初步 CR,但仍有患者复发,靶向抗原的丢失可能是一方面的原因,而多个靶向抗原的 CAR 构建体可能可以降低复发的风险。目前,抗 CD19/CD22 双特异性 CART 细胞治疗(NCT03448393)正在进行临床试验,为难治/复发性表达 CD19/CD22 的 B 细胞恶性肿瘤患者提供更好的解决方案。另一项临床试验抗 CD19/CD20 双特异性 CAR-T 细胞(NCT03271515)也在进行中,主要针对 ALL 和 CLL 患者,旨在克服由于抗原丢失引起的复发,为患者提供特异性靶向治疗。

#### 4.3 异基因 CAR-T 细胞

开发通用的同种异体 CAR-T 细胞是一个大胆的设想,理论上它可能可以帮助扩大 CART 细胞疗法的适用范围,缩短首次输注时制备 CAR-T 细胞的时间,并且保证每次输注产品成分的一致性以降低毒性<sup>[32]</sup>。另外,通用型 CAR-T 细胞不仅能扩大制备规模而且能降低治疗成本。但是这项技术会存在许多障碍,尤其是需要克服移植物抗宿主病和排异反应。

#### 4.4 新一代基因工程技术下的 CAR-T 细胞

随着基因工程技术的快速发展,CAR-T 细胞的改良和创新有了更多的途径,比如,我们可以利用 CRISPR 技术来增强 CAR-T 细胞毒性以及插入某些

“安全开关”来控制 CAR-T 细胞的增殖和活性。

CRISPR 源自细菌抗病毒防御系统,通过最新 CRISPR 技术,可以将遗传物质精确地整合到靶细胞基因组中<sup>[33]</sup>。一项研究指出,使用 CRISPR/Cas9 将 CAR 定位在 TRAC 基因组位置,产生的 T 细胞可均一地表达 CAR,并在鼠 ALL 模型中对肿瘤细胞显示出更强的杀伤性<sup>[34]</sup>。

IL-12 在抗肿瘤免疫中起了重要作用,不仅能刺激活化型 T 细胞增殖,诱导 CTL 和 NK 细胞的细胞毒活性并促进其分泌细胞因子,还能增强针对肿瘤细胞的 ADCC 效应(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)。一项研究结果<sup>[35]</sup>表明,用 GPC3 特异性 synNotch 受体转导的 NK92 细胞可以与肿瘤细胞表达的 GPC3 抗原反应而产生细胞因子 IL-12,从而减少 CAR-T 细胞的耗竭,并提高 CART 细胞的抗肿瘤功能。

为了控制 CART 治疗的不良反应,导入自杀基因是一种有效的安全调控策略。一项临床前研究表明,表达 HSV-TK 的抗 CD44v6 CAR-T 细胞具有良好的抗肿瘤功效,并且在使用更昔洛韦(GCV)后可被大量清除<sup>[26]</sup>。目前,正在研究在 CAR 中掺入 Caspase-9/人 FK506 结合蛋白杂合体,该“安全开关”可促进 CAR-T 细胞凋亡,从而更精确地控制细胞增殖和活性,以减少毒性反应。另外,构建 iCARs 也是一种选择,通过构建胞内域 PD-1 或 CTLA-4 分子,可限制 T 细胞细胞因子的分泌,降低细胞毒性<sup>[36]</sup>。

#### 4.5 CART 疗法

CAR-T 细胞疗法为血液系统恶性肿瘤患者的治疗提供了广阔的前景,为开发其他癌症的治疗策略奠定了基础。但 CART 的临床研究仍处于初步阶段,如何提高 CAR-T 细胞的靶向性及抗肿瘤作用以及如何减少和改善不良反应提高生存率仍是 CART 治疗的重点和难点。目前,已有双靶向 CARs、syn-Notch 受体能够提高 CART 细胞的特异性及杀伤性,而导入自杀基因、构建抑制性 CARs、使用人源化 scFv 段等方法已被证实能够控制不良反应。随着基因编辑技术的日益精确以及治疗方案的持续断优化,CART 治疗将不断得到完善和改进。

#### 参考文献:

- [1] Srivastava S, Riddell SR. Engineering car-t cells: design concepts[J]. Trends Immunol, 2015, 36(8):494-502.
- [2] Zhao Z, Condomines M, van der Stegen SJC, et al. Struc-

- tural design of engineered costimulation determines tumor rejection kinetics and persistence of car T cells[J]. *Cancer Cell*, 2015, 28(4): 415–428.
- [3] Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene ciloleucel car T-cell therapy in refractory large b-cell lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(26): 2531–2544.
  - [4] Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, 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]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(6): 540–549.
  - [5] Boyiadzis MM, Dhodapkar MV, Brentjens RJ, et al. Chimeric antigen receptor (car) T therapies for the treatment of hematologic malignancies: clinical perspective and significance[J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 137–142.
  - [6] 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.
  - [7] Brudno JN, Kochenderfer JN. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for lymphoma [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 31–46.
  - [8] Kochenderfer JN, Somerville RPT, Lu T, et al. Long-duration complete remissions of diffuse large b cell lymphoma after anti-cd19 chimeric antigen receptor T cell therapy[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(10): 2245–2253.
  - [9] Xiao X, Yuan T, Meng JX, et al. Analysis on poor efficacy factors in the treatment of recurrent/refractory b-cell lymphoma with cd19 car-T cells [J]. *National Medical Journal of China*, 2020, 100(8): 593–598. [肖霞, 袁婷, 孟娟霞, 等. CD19 嵌合抗原受体 T 细胞治疗复发难治 B 细胞淋巴瘤患者效果不佳的因素分析 [J]. *中华医学杂志*, 2020, 100 (8): 593–598.]
  - [10] Tu S, Zhou X, Guo Z, et al. Cd19 and cd70 dual-target chimeric antigen receptor t-cell therapy for the treatment of relapsed and refractory primary central nervous system diffuse large b-cell lymphoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1350.
  - [11] Du J, Zhang Y. Sequential anti-cd19, 22, and 20 autologous chimeric antigen receptor t-cell (car-t) treatments of a child with relapsed refractory burkitt lymphoma: a case report and literature review [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(6): 1575–1582.
  - [12] Cooper ML, DiPersio JF. DiPersio. Chimeric antigen receptor T cells(car-t) for the treatment of t-cell malignancies [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2019, 32(4): 101097.
  - [13] Mamonkin M, Rouce RH, Tashiro H, et al. A t-cell-directed chimeric antigen receptor for the selective treatment of T-cell malignancies[J]. *Blood*, 2015, 126(8): 983–992.
  - [14] Chen KH, Wada M, Pinz KG, et al. Preclinical targeting of aggressive T-cell malignancies using anti-cd5 chimeric antigen receptor[J]. *Leukemia*, 2017, 31(10): 2151–2160.
  - [15] Wang W, Jiang J, Wu C. Car-nk for tumor immunotherapy: clinical transformation and future prospects [J]. *Cancer Lett*, 2020, 472: 175–180.
  - [16] Ansell SM. Hodgkin lymphoma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. *Am J Hematol*, 2018, 93(5): 704–715.
  - [17] Wang CM, Wu ZQ, Wang Y, et al. Autologous T cells expressing cd30 chimeric antigen receptors for relapsed or refractory hodgkin lymphoma: an open-label phase I trial [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(5): 1156–1166.
  - [18] Svoboda J, Rheingold SR, Gill SI, et al. Nonviral rna chimeric antigen receptor-modified T cells in patients with hodgkin lymphoma[J]. *Blood*, 2018, 132(10): 1022–1026.
  - [19] Lee DW, Gardner R, Porter DL, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome[J]. *Blood*, 2014, 124(2): 188–195.
  - [20] Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management [J]. *Blood*, 2016, 127(26): 3321–3330.
  - [21] Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, et al. Toxicity and management in car T-cell therapy[J]. *Mol Ther Oncol*, 2016, 3: 16011.
  - [22] Murthy H, Iqbal M, Chavez JC, et al. Cytokine release syndrome: current perspectives [J]. *Immun Ther*, 2019, 8: 43–52.
  - [23] Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 47–62.
  - [24] Gust J, Hay KA, Hanafi LA, et al. Endothelial activation and blood-brain barrier disruption in neurotoxicity after adoptive immunotherapy with cd19 car-T cells [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(12): 1404–1419.
  - [25] Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(16): 1507–1517.
  - [26] Casucci M, Falcone L, Camisa B, et al. Extracellular ngfr spacers allow efficient tracking and enrichment of fully functional car-T cells co-expressing a suicide gene [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 507.
  - [27] Yu S, Yi M, Qin S, et al. Next generation chimeric antigen receptor T cells: safety strategies to overcome toxicity[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 125.
  - [28] Feins S, Kong W, Williams EF, et al. An introduction to chimeric antigen receptor(car) T-cell immunotherapy for human cancer[J]. *Am J Hematol*, 2019, 94(S1): S3–S9.
  - [29] Grover NS, Savoldo B. Challenges of driving cd30-directed car-t cells to the clinic[J]. *BMC cancer*, 2019, 19(1): 203–208.
  - [30] Ramos CA, Ballard B, Zhang H, et al. Clinical and immunological responses after cd30-specific chimeric antigen receptor-redirection lymphocytes [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(9): 3462–3471.
  - [31] Shah NN, Highfill SL, Shalabi H, et al. Cd4/cd8 T-cell selection affects chimeric antigen receptor(car) T-cell potency and toxicity: updated results from a phase I anti-cd22 car T-cell trial[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(17): 1938–1950.
  - [32] Ruella M, Kenderian SS. Next-generation chimeric antigen receptor t-cell therapy: going off the shelf [J]. *BioDrugs*, 2017, 31(6): 473–481.
  - [33] Lino CA, Harper JC, Carney JP, et al. Delivering crispr: a review of the challenges and approaches[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1234–1257.
  - [34] 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.
  - [35] Luo H, Wu X, Sun R, et al. Target-dependent expression of il12 by synnotch receptor-engineered nk92 cells increases the antitumor activities of car-t cells[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1448.
  - [36] Wei J, Luo C, Wang Y, et al. Pd-1 silencing impairs the anti-tumor function of chimeric antigen receptor modified T cells by inhibiting proliferation activity[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 209.